

**Pengaruh pH Terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri  
Organofosfat Diazinon**

**SKRIPSI**

Oleh :

**FAIZATUL FITRIA**

**0810923045-92**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2012**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



# **Pengaruh pH Terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri Organofosfat Diazinon**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains  
dalam bidang Kimia

Oleh :

**FAIZATUL FITRIA**

**0810923045 – 92**



**JURUSAN KIMIA**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2012**

## LEMBAR PENGESAHAN

### Pengaruh pH Terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri Organofosfat Diazinon

Oleh :

**FAIZATUL FITRIA**  
**0810923045-92**

Setelah dipertahankan didepan Majelis Penguji  
pada tanggal.....  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana  
Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Ani Mulyasuryani, Msi  
NIP. 1963062819911032001

Drs. Sutrisno, Msi  
196203181990021001

Mengetahui  
Ketua Jurusan Kimia  
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Dr. Sasangka Prasetyawan, MS  
NIP. 196304041987011001

## LEMBAR PERNYATAAN

**Saya yang bertanda tangan di bawah ini :**

**Nama: Faizatul Fitriia**

**NIM: 0810923045-92**

**Jurusan: Kimia**

**Penulis skripsi berjudul:**

**Pengaruh pH Terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri Organofosfat Diazinon**

**Dengan ini menyatakan bahwa :**

- 1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.**
- 2. Apabila di kemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.**

**Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.**

**Malang,.....2012**

**Yang menyatakan,**

**(Faizatul Ftria)**

**NIM. 0810923045-92**

# Pengaruh pH Terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri Organofosfat Diazinon

## ABSTRAK

Kinerja biosensor konduktometri organofosfat dipengaruhi oleh pH larutan diazinon. Pada umumnya, organofosfat hidrolase dalam keadaan bebas memiliki pH optimum pada kisaran pH 7,5 hingga 9,5. pH larutan mempengaruhi aktivitas katalisis organofosfat hidrolase sehingga dapat mempengaruhi kinerja biosensor konduktometri organofosfat meliputi kepekaan, kisaran konsentrasi, batas deteksi, waktu respon, dan lama pemakaian. Pada penelitian ini, organofosfat hidrolase diisolasi dari *Pseudomonas putida*. Organofosfat hidrolase diamobilkan pada membran kitosan yang dilapiskan pada elektroda secara adsorpsi selama 24 jam. Pengukuran daya hantar larutan diazinon dilakukan pada pH 7,5; 8,0; 8,5; 9,0 serta 9,5 dan temperatur 25 °C selama 5 menit. Hasil penelitian ini menunjukkan pH optimum untuk biosensor konduktometri organofosfat adalah pH 9 dengan jumlah enzim yang teramobil sebanyak 10,05 mg. Waktu respon biosensor 180 detik, kisaran konsentrasi biosensor 20 hingga 30 ppm dengan kepekaan 2,101 nmho/ppm, dan lama pemakaian adalah sebanyak 9 larutan diazinon.

Kata kunci: *Biosensor konduktometri, diazinon, pH, organofosfat hidrolase*

# The Effect of pH on Conductometric Organophosphate Diazinon Biosensors Performance

## ABSTRACT

The performance conductometric organophosphate biosensors is influence by the pH of diazinon solution. Generally, organophosphate hydrolase on free condition has optimum pH in range 7.5 to 9.5. pH affects the catalysis of organophosphate hydrolase activity that can affect the performance of biosensors konduktometri organophosphates include sensitivity, concentration range, detection limit, response time, and life time. In this research, organophosphate hydrolase was isolated from *Pseudomonas putida*. Organophosphate hydrolase was immobilized on chitosan membrane wich coated on electrode by adsorption during 24 hours. The conductance of diazinon solution was Measured on pH 7.5; 8.0; 8.5; 9.0 and 9.5 on temperature 25 °C since 5 minutes. The result showed that optimum pH for conductometric biosensor organophosphate was pH 9 with the amount of organophosphate hydrolase immobilized 10,05 mg. Response time of biosensor is 180 seconds, range consentration is 20 to 30 ppm with the sensitivity is 2.101 nmho/ppm, and lifetime is one time with the amount of diazinon solution is 9.

Keyword: *Conductometric biosensors, diazinon, pH, organophosphate hydrolase.*

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis haturkan kehadirat Allah SWT, karena hanya dengan rahmatnya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh pH Terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri Organofosfat Diazinon”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang Kimia, di Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang.

Penulis skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Oleh sebab itu, penulis memberikan penghargaan dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Ani Mulyasuryani, Msi, selaku dosen pembimbing I dan Drs. Sutrisno, Msi, selaku dosen pembimbing II yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan arahan, bimbingan, serta dukungan dalam penyelesaian skripsi ini.
2. Drs. Suratmo, M.Si, selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan, arahan, dukungan, serta nasehat selama masa studi.
3. Dr. Sasangka Prasetyawan, MS, selaku Ketua Jurusan Kimia, serta segenap Staf Pengajar dan Karyawan Jurusan Kimia.
4. Keluarga dan teman-teman yang telah memberi dukungan selama ini.

Skripsi ini tentunya masih terdapat banyak kesalahan dan kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran demi penyempurnaan skripsi ini. Akhirnya, penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

**Malang,**

**Penulis**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Batasan Masalah .....	3
1.4 Tujuan Penelitian .....	3
1.5 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1 Biosensor .....	4
2.2.1 Biosensor konduktometri .....	4
2.2.2 Biosensor enzimatis .....	7
2.2 Biosensor Organofosfat .....	9
2.3 Hipotesis .....	11
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	<b>12</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	12
3.2 Bahan dan Alat Penelitian .....	12
3.2.1 Bahan penelitian .....	12
3.2.2 Alat penelitian .....	12
3.3 Tahapan Penelitian .....	12
3.4 Prosedur Kerja Penelitian .....	13
3.4.1 Pembuatan membran kitosan.....	13
3.4.2 Pembuatan elektroda .....	13
3.4.3 Amobilisasi organofosfat hidrolase .....	13
3.4.4 Pembuatan larutan organofosfat diazinon 0 ppm hingga 20 ppm ph 7,5; 8,0; 8,5; 9,0; 9,5; dan10 .....	13
3.4.5 Analisa data .....	13
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>15</b>

4.1 Pengaruh pH Terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri Organofosfat.....	15
4.2 Karakteristik Biosensor Konduktometri Organofosfat.....	17
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>21</b>
5.1 Kesimpulan .....	21
5.2 Saran.....	21
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>22</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>27</b>

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
<b>Gambar 2.1</b> Skema sistem deteksi konduktansi .....	6
<b>Gambar 2.2</b> Pergerakan ion menuju kutub elektroda.....	7
<b>Gambar 2.3</b> Struktur molekul kitosan.....	9
<b>Gambar 2.4</b> Struktur O,O-dietil-O-(2-isopropil-6-metil-4-pirimidil) fosforotioat .....	9
<b>Gambar 2.5</b> Reaksi Oksidasi p-nitrofenol pada anoda.....	10
<b>Gambar 2.6</b> Reaksi Hidrolisis O,O-dietil-O-(2-isopropil-6-metil-4-pirimidil) fosforotioat.....	11
<b>Gambar 4.1</b> Grafik hubungan daya hantar larutan organofosfat diazinon terhadap waktu pada konsentrasi 20-30 ppm .....	17
<b>Gambar 4.2</b> Grafik hubungan antara daya hantar dengan konsentrasi organofosfat pada konsentrasi 0-30 ppm	19
<b>Gambar C.1</b> Kurva optimasi daya hantar pada pH 7,5 .....	35
<b>Gambar C.2</b> Kurva optimasi daya hantar pada pH 8,0 .....	36
<b>Gambar C.3</b> Kurva optimasi daya hantar pada pH 8,5 .....	37
<b>Gambar C.4</b> Kurva optimasi daya hantar pada pH 9,0.....	38
<b>Gambar C.5</b> Kurva optimasi daya hantar pada pH 9,5.....	39
<b>Gambar C.6</b> Kurva pengaruh pH terhadap kinerja biosensor konduktometri .....	40
<b>Gambar D.1</b> Kurva waktu respon untuk elektroda A .....	41
<b>Gambar D.2</b> Kurva waktu respon untuk elektroda B .....	42
<b>Gambar D.3</b> Kurva rata-rata waktu respon elektroda A dan B pada konsentrasi 20 hingga 30 ppm.....	43
<b>Gambar D.4</b> Grafik hubungan antara daya hantar dengan konsentrasi organofosfat pada konsentrasi 0-30 ppm	51
<b>Gambar E.1</b> Kurva baku kasein .....	46
<b>Gambar F.1</b> Rangkaian alat biosensor konduktometri organofosfat diazinon.....	48
<b>Gambar F.2</b> Membran kitosan pada elektroda .....	49
<b>Gambar F.3</b> Inokulum (media cair pertumbuhan bakteri) .....	49

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
<b>Tabel 4.1</b> Pengaruh pH larutan terhadap kepekaan dan linieritas biosensor konduktometri organofosfat pada kisaran konsentrasi 0-20 ppm .....	15
<b>Tabel 4.2</b> Hubungan jumlah pemakaian, kepekaan dan kisaran konsentrasi .....	20
<b>Tabel B.1</b> Komposisi larutan buffer Tris-Cl pada berbagai pH dengan konsentrasi 0,01 M.....	31
<b>Tabel B.2</b> Komposisi Larutan Diazinon unutup Berbagai Konsentrasi .....	33
<b>Tabel B.3</b> Komposisi pembuatan larutan kasein.....	34
<b>Tabel C.1</b> Optimasi Daya Hantar pada pH 7,5 .....	35
<b>Tabel C.2</b> Optimasi Daya Hantar pada pH 8,0 .....	36
<b>Tabel C.3</b> Optimasi Daya Hantar pada pH 8,5 .....	37
<b>Tabel C.4</b> Optimasi Daya Hantar pada pH 9,0 .....	38
<b>Tabel C.5</b> Optimasi Daya Hantar pada pH 9,5 .....	39
<b>Tabel C.6</b> Pengaruh pH larutan terhadap kepekaan dan linieritas biosensor konduktometri organofosfat pada kisaran konsentrasi 0-20 ppm .....	40
<b>Tabel D.1</b> Penentuan waktu respon biosensor konduktometri elektroda A .....	41
<b>Tabel D.2</b> Penentuan waktu respon biosensor konduktometri elektroda B.....	42
<b>Tabel D.3</b> Rata-rata penentuan waktu respon elektroda A dan B .	43
<b>Tabel D.4</b> Pengukuran daya hantar elektroda A dan B untuk pemakaian pertama pada detik ke-120 .....	45
<b>Tabel D.5</b> Pengukuran daya hantar elektroda A dan B untuk pemakaian kedua pada detik ke-120.....	45
<b>Tabel E.1</b> Absorbansi kasein pada 536 nm.....	46
<b>Tabel E.2</b> Absorbansi larutan OPH (organofosfat hidrolase) .....	47

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran A. Isolasi Organofosfat Hidrolase.....	27
A.1 Pembuatan Media Padat Agar Miring .....	27
A.2 Media Pertumbuhan.....	27
A.3 Peremajaan dan Pemurnian Biakan .....	27
A.4 Pembuatan Biakan Aktif (Inokulum).....	27
A.5 Produksi dan Isolasi Enzim.....	27
A.6 Pembuatan Kurva Kasein.....	28
A.7 Penentuan Kadar Protein .....	28
Lampiran B. Pembuatan Larutan.....	28
B.1 Pembuatan Larutan Konsentrat Garam.....	28
B.2 Pembuatan Larutan Elemen Renik .....	28
B.3 Pembuatan Larutan Garam Mineral.....	29
B.4 Pembuatan Larutan Sukrosa 20%.....	29
B.5 Pembuatan Larutan Glutaraldehyd 0,01% .....	29
B.6 Pembuatan Larutan NaOH 1% (w/v).....	29
B.7 Larutan asam asetat pH 4 .....	29
B.8 Larutan Tris 0,2 M.....	30
B.9 Pembuatan Larutan Buffer Tris-Cl dengan berbagai pH .....	30
B.9.1 Pembuatan larutan buffer Tris-Cl pH 8 0,05 M.....	30
B.9.2 Pembuatan larutan buffer Tris-Cl pH 7,5 0,01 M31	31
B.10 Larutan NaOH 10% (w/v).....	32
B.11 Larutan Biuret.....	32
B.12 Pembuatan Larutan uji diazinon pH 9.....	32
B.12.1 Pembuatan larutan diazinon 40 ppm .....	32
B.12.2 Pembuatan larutan uji diazinon.....	32
B.13 Pembuatan Larutan HCl 0,2 M.....	33
B.14 Pembuatan Larutan Kasein.....	34
B.14.1 Pembuatan larutan kasein 10000 ppm.....	34
B.14.2 Pembuatan larutan kasein 2000 ppm.....	34
Lampiran C. Optimasi Biosensor Konduktometri Organofosfat .....	35
Lampiran D. Karakterisasi Biosensor Konduktometri Organofosfat.....	41
D.1 Penentuan Waktu Respon .....	41
D.2 Penentuan Kisaran Konsentrasi.....	44
D.3 Penentuan Lama Pemakaian .....	45
Lampiran E. Penentuan Jumlah Enzim Amobil .....	46

E.1 Penentuan $\lambda_{\text{mak}}$ Kasein.....	46
E.2 Kurva Baku Kasein.....	46
Lampiran F. Gambar Pendukung.....	48
F.1 Rangkaian Alat Biosensor Konduktometri Organofosfat.....	48
F.2 Membran Kitosan yang Terlapis pada Elektroda Kerja .....	48
F.3 Media Cair Pertumbuhan Bakteri.....	49

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diazinon merupakan salah satu jenis pestisida yang diizinkan [1]. Batas maksimum residu diazinon pada beras yang diperbolehkan sebesar 0,1 mg/Kg [2], sedangkan untuk sayuran dan buah-buahan 0,5 mg/Kg [3]. Penggunaan pestisida yang tidak sesuai dengan aturan dapat menyebabkan keracunan dan tingkat bahaya diazinon dinyatakan dengan Letal Dosis 50 (LD<sub>50</sub>) yaitu 100 mg/Kg [4]. Oleh karena itu diperlukan metode analisis terhadap kadar residu pestisida diazinon. Metode analisis yang sering digunakan untuk penentuan kadar residu pestisida dalam makanan adalah metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dan Kromatografi Gas (KG). Akan tetapi metode ini masih membutuhkan waktu yang lama untuk preparasi sampel. Selain itu, KCKT dan KG merupakan alat yang sangat besar, sehingga tidak dapat digunakan dalam laboratorium secara langsung [5]. Oleh karena itu diperlukan alat yang lebih praktis, selektif. Selain itu memiliki kepekaan, keakuratan yang lebih tinggi, dan biosensor adalah alat yang dapat memberikan keunggulan tersebut [6].

Biosensor merupakan alat analisa yang mengubah sebuah respon biologis menjadi sinyal yang dapat diukur dan diproses [7]. Penyusun biosensor yang paling utama adalah bioaktif dan transduser [8]. Biosensor dapat digunakan untuk menentukan kadar residu pestisida organofosfat dan yang telah dikembangkan adalah biosensor potensiometri dan biosensor amperometri. Tetapi kedua biosensor tersebut memiliki kelemahan yaitu, biosensor organofosfat potensiometri telah dikembangkan oleh Mulchandani, dkk memiliki sensitivitas yang rendah dan batas deteksi yang cukup besar yaitu 5μM ≈ 1.521 mg/kg [9]. Sedangkan biosensor organofosfat amperometri hanya mampu mendeteksi jenis organofosfat yang menghasilkan produk p-nitrofenol hasil hidrolisis [10]. Oleh karena itu diperlukan metode lain yaitu biosensor konduktometri.

Biosensor konduktometri merupakan pengukuran yang berdasarkan pada perubahan daya hantar suatu larutan yang mengalami reaksi enzimatik [11]. Pada diazinon hasil hidrolisis yang diperoleh adalah H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>, O,O asam dietil fosfotioat dan 2-isopropil-6-

metil pirimidin-4-ol [12] yang mengakibatkan perubahan daya hantar larutan. Biosensor konduktometri ini merupakan salah satu solusi untuk mendeteksi organofosfat dengan kinerja yang baik dan biaya yang relatif murah [13]. Untuk meningkatkan kepekaan biosensor konduktometri organofosfat diazinon, maka dibuat biosensor organofosfat yang menggunakan membran kitosan sebagai media amobilisasi organofosfat hidrolase. Kitosan adalah membran yang mempunyai gugus amino ( $-NH_2$ ), yang dapat membentuk ikatan silang jika direaksikan dengan glutaraldehid. Ikatan silang yang terjadi dapat membentuk pori. Pori yang terbentuk pada membran kitosan akan menjadi tempat amobilisasi enzim secara adsorpsi dan tidak mengurangi kemampuan aktivitas enzim [14].

Pada penelitian ini digunakan organofosfat hidrolase karena dapat mengkatalisis reaksi hidrolisis O,O-dietil- O-(2- isopropil-6-metil-4-pirimidil) fosforotioat [12]. Kerja enzim sangat dipengaruhi oleh pH larutan, oleh karena itu pH larutan dapat mempengaruhi kinerja biosensor konduktometri organofosfat. Kisaran pH yang akan dipelajari adalah 7,5 hingga 9,5 pada temperatur 25 °C, karena pH optimum enzim organofosfat hidrolase berada pada kisaran pH tersebut [15]. Selain itu, O,O-dietil-O-(2-isopropil-6-metil-4-pirimidil) fosforotioat (diazinon) mudah mengalami reaksi hidrolisis pada pH 7,3 hingga 10,4 [16], sehingga meningkatkan selektivitas biosensor. Menurut Ningfeng, organofosfat hidrolase bebas memiliki pH optimum 9 [15] dan organofosfat hidrolase amobil memiliki pH 8,5 [10]. Pada penelitian ini pH optimum dari organofosfat hidrolase yang diamobilisasikan pada membran kitosan masih belum diketahui, sehingga perlu dipelajari pengaruh pH terhadap kinerja biosensor konduktometri organofosfat yang meliputi kepekaan, batas deteksi, kisaran konsentrasi, waktu respon, dan efisiensi.

## **1.2 Perumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut di atas, masalah yang dapat dirumuskan adalah

1. Bagaimana pengaruh pH terhadap kinerja biosensor konduktometri organofosfat yang dibuat dengan menggunakan kitosan sebagai matriks amobilisasi organofosfat hidrolase?

2. Bagaimana karakterisasi biosensor konduktometri organofosfat yang meliputi kepekaan, kisaran konsentrasi, batas deteksi, dan waktu respon biosensor?

### **1.3 Batasan Masalah**

1. Enzim yang digunakan adalah enzim organofosfat hidrolase yang diisolasi dari *Pseudomonas putida*
2. Jenis organofosfat yang digunakan adalah organofosfat diazinon
3. Kisaran pH buffer fosfat yang digunakan dalam penelitian ini adalah 7,5; 8,0; 8,5; 9,0; 9,5
4. Pengukurannya dilakukan pada temperatur 25 °C
5. Konsentrasi diazinon yang digunakan 0-20 ppm
6. Menggunakan kitosan sebagai media amobilisasi
7. Menggunakan metode adsorpsi sebagai metode amobilisasi
8. Parameter kinerja biosensor yang diuji adalah kepekaan, kisaran konsentrasi, batas deteksi, dan waktu respon biosensor

### **1.4 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari pengaruh pH terhadap kinerja biosensor konduktometri organofosfat diazinon yang dibuat dengan menggunakan kitosan sebagai media amobilisasi enzim organofosfat hidrolase dan mempelajari karakterisasinya meliputi kepekaan, kisaran konsentrasi, batas deteksi, dan waktu respon.

### **1.5 Manfaat Penelitian**

Berdasarkan penelitian ini dapat dipelajari fenomena perubahan pH optimum organofosfat hidrolase yang teramobilisasikan pada membran kitosan dan dapat dipelajari karakterisasi dari biosensor tersebut meliputi kepekaan, kisaran konsentrasi, batas deteksi, dan waktu respon biosensor.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Biosensor**

Biosensor merupakan alat yang menggabungkan sensor dengan reaksi biologis yang spesifik [17]. Karena gabungan dari kedua hal tersebut maka biosensor dapat mengubah respon biologis menjadi sinyal yang dapat diukur dan diproses. Biosensor terdiri dari bioaktif, transduser dan elemen detektor. Bioaktif adalah molekul yang dapat bereaksi dengan analit secara selektif dan akan menghasilkan molekul baru yang dapat dikenali oleh transduser dan dideteksi oleh detektor [18]. Kinerja biosensor dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu kondisi larutan, kinerja enzim, jumlah substrat, pH, temperatur, metode amobilisasi enzim, dan jenis transduser yang digunakan [19]. Dalam hal ini transduser memegang peranan penting pada biosensor.

Transduser adalah alat yang mengubah respon menjadi sinyal yang diproses dan diukur. Transduser yang banyak berkembang dalam biosensor adalah transduser elektrokimia, karena memiliki konstruksi yang sederhana. Transduser elektrokimia pada biosensor memanfaatkan perubahan komponen dan sifat larutan setelah terjadi reaksi antara bioaktif dengan analit. Transduser elektrokimia memiliki sensitivitas yang cukup tinggi, biaya yang digunakan relatif murah, dan membutuhkan daya yang rendah. Transduser elektrokimia sendiri terdiri dari 3 jenis yaitu potensiometri, voltametri, dan konduktometri [8]. Pada penelitian kali ini digunakan transduser konduktometri.

Transduser konduktometri melibatkan pengukuran daya hantar akibat mobilitas ion-ion dalam larutan dengan adanya arus listrik. Secara normal hal ini akan menghasilkan suatu perubahan pada daya konduktivitas dari larutan, yang dapat diukur secara elektris. Konduktometri adalah metode analisis kimia secara kuantitatif yang didasarkan pada pengukuran daya hantar listrik suatu larutan yang bergantung pada jenis dan konsentrasi senyawa ion [8].

##### **2.1.1 Biosensor konduktometri**

Konduktometri adalah metode analisis kimia secara kuantitatif yang didasarkan pada pengukuran daya hantar listrik suatu larutan yang bergantung pada jenis dan konsentrasi senyawa ion. Daya

hantar listrik merupakan kebalikan dari resistensi, sesuai dengan Hukum Ohm [20]:

$$E = I \cdot R \quad (2.1)$$

E adalah potensial listrik yang diterapkan, I adalah arus yang diukur dan R adalah resistensi larutan antara 2 elektroda. Semakin tinggi konsentrasi ion dalam larutan, maka nilai R semakin rendah. Selain itu jarak antar elektroda, luas permukaan, dan identitas ion juga akan mempengaruhi nilai R.

Daya hantar atau konduktansi dinyatakan dalam satuan siemens (S) atau mho  $\Omega^{-1}$ . Pengukuran konduktansi suatu larutan dipengaruhi oleh jarak antar elektroda (d) dan luas permukaan elektroda (A) dengan persamaan [20]:

$$S = \frac{1}{R} = K \frac{A}{d} \quad (2.2)$$

K adalah konduktivitas yang merupakan sifat intrinsik dari suatu larutan, dan A/d adalah konstanta satu pengukuran sel.

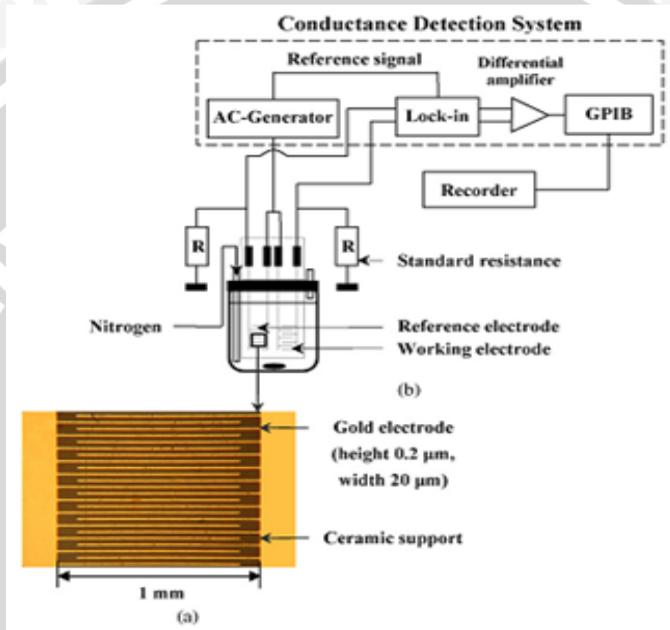
Konduktivitas larutan bergantung pada konsentrasi ion, maka nilai pengukuran dari larutan yang berbeda tidak dapat dibandingkan dengan mudah, sehingga digunakan istilah konduktivitas molar dengan persamaan [20]:

$$\Lambda = \frac{K}{C} \quad (2.3)$$

Konsentrasi ionik total adalah konsentrasi dalam molar muatan positif atau negatif dalam suatu larutan dan dinyatakan dengan satuan  $\text{mol}/\text{cm}^3$ . Konduktivitas ini berbanding lurus dengan konduktansi. Jadi dari persamaan tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin besar konsentrasi maka konduktansinya akan semakin rendah, begitupula sebaliknya [21].

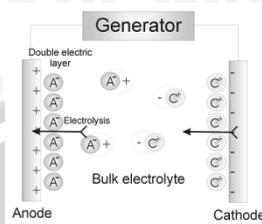
Biosensor konduktometri mempelajari perubahan daya hantar larutan selama proses selama reaksi enzimatik. Biosensor konduktometri memiliki rancangan sederhana, tidak membutuhkan elektroda pembanding dan tidak dipengaruhi oleh warna ataupun kekeruhan sampel [11]. Untuk pengujian secara langsung, biosensor konduktometri memberikan beberapa keuntungan yaitu elektroda

konduktometri sederhana, relatif murah, dapat disesuaikan untuk miniaturisasi, tegangan listrik yang digunakan cukup kecil, dan merupakan alat yang sangat praktis [22]. Berikut merupakan gambar dari biosensor konduktometri [23].



**Gambar 2.1** Skema sistem deteksi konduktansi

Mekanisme kerja dari biosensor konduktometri adalah mengukur perubahan daya hantar ion dalam larutan dari analit yang terlarut melalui reaksi enzimatik menjadi larutan elektrolit. Adanya reaksi enzimatik menyebabkan perubahan jumlah ion dalam larutan, perubahan jumlah ion akan mempengaruhi mobilitas ion dan daya hantar larutan. Biosensor konduktometri memiliki dua elektroda dihubungkan dengan beda potensial tertentu. Ketika kedua elektroda tersebut dimasukkan dalam larutan, maka mobilitas ion dalam larutan akan semakin besar, sehingga ion-ion tersebut akan bergerak menuju ke masing-masing kutub. Dimana ion negatif menuju ke anoda, sedangkan ion positif menuju ke katoda [24]. Seperti yang terlihat pada **Gambar 2.2**:



**Gambar 2.2** Pergerakan ion menuju kutub elektroda

Adanya mobiltas ion yang menuju ke masing-masing kutub dapat menimbulkan arus yang dibaca sebagai daya hantar larutan. Daya hantar larutan ini sangat tergantung pada jumlah ion yang ada pada larutan, sedangkan jumlah ion sangat tergantung pada kecepatan reaksi enzimatis. Bila reaksi enzimatis semakin cepat, maka jumlah ion yang dihasilkan akan semakin banyak dan daya hantar larutannya semakin besar dan bila reaksi enzimatis berjalan lambat, maka jumlah ion yang dihasilkan semakin sedikit, sehingga daya hantar larutannya kecil [24]. Karena biosensor ini didasarkan pada reaksi enzimatis, maka kinerja biosensor sangat dipengaruhi oleh bioaktif. Salah satu jenis bioaktif yang sering digunakan adalah enzim [8].

### 2.1.2 Biosensor enzimatis

Bioaktif adalah molekul biologis yang dapat bereaksi dengan analit secara selektif. Dalam biosensor, bioaktif dapat berupa enzim, jaringan, mikroorganisme, organel, dan asam nukleat. Biosensor yang pertama kali dikembangkan menggunakan enzim sebagai bioaktifnya, sehingga sekarang ini banyak dikembangkan biosensor menggunakan enzim. Kelebihan enzim sebagai bioaktif adalah enzim dapat mengikat substrat, memiliki selektivitas yang tinggi, memiliki aktivitas katalis yang akan meningkatkan sensitivitas, dan dapat bereaksi secara cepat [8].

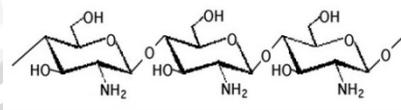
Enzim merupakan senyawa yang berfungsi sebagai katalisator pada reaksi biokimia. Enzim ini bekerja secara spesifik pada substrat tertentu. Pada dasarnya terdapat tiga jenis aplikasi enzimatis, yaitu untuk menghasilkan, mendeteksi, dan mendegradasi senyawa tertentu [25]. Kinerja enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu pH, temperatur, dan substrat. Pada penelitian ini digunakan enzim organofosfat hidrolase, enzim ini mampu mengkatalisis reaksi

hidrolisis pestisida organofosfat. Pada rekasi hidrolisis enzim ini akan mengkatilisis reaksi hidrolisis pada ikatan P-O, P-F, dan P-S [26]. Organofosfat hidrolase merupakan senyawa dimer dan binuklir metaloenzim. OPH dalam keadaan bebas memiliki pH optimum 9 [15], dan pada keadaan teramobil memiliki pH optimum 8,5 [9]. Menurut Efremenko, organofosfat hidrolase murni memiliki titik isoelektrik 7,4 [26]. Oleh karena bila pH larutan di atas titik isoelektrik maka enzim akan bermuatan negatif [27], sehingga pada penelitian kali ini digunakan kisaran pH di atas titik isoelektrik supaya mekanisme reaksi  $S_N2$  untuk menghidrolisis diazinon dapat berlangsung [26]. Dalam penggunaan biosensor enzim harus diamobilisasi pada matriks pendukung.

Metode amobilisasi merupakan faktor yang paling menentukan pada biosensor, karena semakin kuatnya ikatan antara enzim dengan membran, maka kinerja dari biosensor akan lebih baik. Metode amobilisasi enzim terdapat lima metode yaitu adsorpsi, mikroenkapsulasi, penjebakan, ikatan kovalen, dan ikatan silang. Pada penelitian ini digunakan metode amobilisasi adsorpsi [28]. Adsorpsi merupakan metode yang sederhana dan preparasinya cukup mudah. Cara amobilisasi enzim adalah beberapa enzim diadsorpsi pada permukaan membran seperti alumina, arang, tanah liat, selulosa, kaolin, silika gel, kaca dan kolagen. Metode ini juga tidak merubah sisi aktif enzim, sehingga tidak akan mengurangi kinerja enzim. Akan tetapi ikatannya lemah dan metode ini sangat cocok untuk penelitian yang membutuhkan waktu singkat. Metode ini dapat bertahan selama 1 hari. Metode amobilisasi harus dilakukan pada matriks pendukung [8].

Matriks pendukung merupakan suatu polimer yang digunakan untuk mengikat enzim atau disebut sebagai media amobilisasi enzim. Salah satu polimer yang banyak digunakan adalah kitosan. Kitosan memiliki rumus molekul  $(C_6H_{11}NO_4)_n$  dan merupakan padatan amorf yang berwarna putih kekuningan. Kitosan larut dengan baik dalam larutan asam asetat 2%. Kitosan tidak beracun dan mudah terbiodegradasi, selain itu kitosan juga mudah membentuk membran [29]. Kitosan memiliki dua gugus fungsi yaitu amino dan hidroksil sehingga mampu membentuk ikatan kimia dengan enzim [30]. Karena membran kitosan memiliki gugus amino ( $-NH_2$ ) pada rantai polisakaridanya, maka kitosan dapat bermuatan positif sehingga mudah larut pada pH dibawah 6 [31]. Kitosan memiliki sifat tidak

bereaksi dengan diazinon sehingga dapat digunakan untuk menganalisis residu pestisida menggunakan biosensor [14].

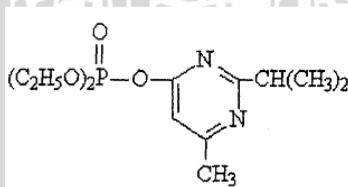


**Gambar 2.3** Struktur molekul kitosan

Membran kitosan memiliki dua jenis yaitu membran kitosan tidak berpori dan membran kitosan berpori. Membran kitosan berpori permukaannya lebih besar dibandingkan dengan membran kitosan tidak berpori, sehingga enzim yang teramobilisasikan jauh lebih banyak. Begitupula dengan aktivitas enzim yang teramobilkan, pada membran berpori aktivitasnya jauh lebih besar daripada aktivitas enzim pada membran tidak berpori. Membran kitosan berpori dapat dibuat dengan menambahkan glutaraldehid sebagai pereaksi pembentuk ikatan silang [32].

## 2.2 Biosensor Organofosfat

Diazinon yang memiliki nama ilmiah O,O-dietil-O-(2-isopropil-6-metil-4-pirimidil) fosforotioat [1] merupakan salah satu pestisida jenis organofosfat [5]. Diazinon merupakan larutan yang tidak berwarna dan mudah larut dalam pelarut organik. Kelarutan diazinon dalam air berkisar antara 40 hingga 60 mg/L pada suhu 20 °C dan mudah terdekomposisi pada suhu 120 °C [33]. Berikut merupakan struktur dari diazinon [5]:



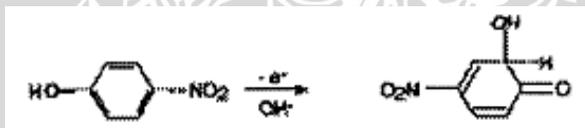
**Gambar 2.4.** Struktur O,O-dietil-O-(2- isopropil-6-metil-4-pirimidil) fosforotioat.

Diazinon memiliki berat molekul 304,3 g/mol dengan densitas 1,117 g/mL (pada 20 °C). Diazinon memiliki tekanan uap  $1,4 \times 10^{-4}$  mm Hg pada 20 °C, diazinon mudah mengalami hidrolisis pada kondisi asam dan basa pada pH 3,1 dan 7,3 hingga 10,4 [16].

Diazinon memiliki tingkat bahaya dengan LD<sub>50</sub> 100 mg/Kg, yang artinya bila kandungan pestisida tersebut melebihi LD<sub>50</sub> maka dapat bersifat sebagai racun [1]. Residu senyawa organofosfat dapat dideteksi dengan biosensor.

Biosensor organofosfat yang telah dikembangkan adalah biosensor potensiometri dan biosensor amperometri. Pada tahun Mulchandani dkk, telah mengembangkan biosensor potensiometri dengan menggunakan transduser berupa elektroda pH. Metode ini menggunakan enzim organofosfat hidrolase. Enzim diamobilisasikan pada membran polivinil alkohol secara ikatan silang. Mekanisme kerja biosensor ini didasarkan pada deteksi ion H<sup>+</sup> hasil hidrolisis organofosfat. Tetapi biosensor ini mempunyai batas deteksi cukup tinggi yaitu 5μM ≈ 1.521 mg/kg sehingga belum dapat diterapkan pada sampel nyata [9].

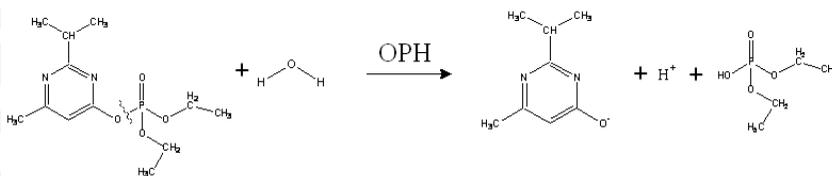
Mulchandani dkk, juga telah mengembangkan biosensor amperometri elektroda *screen printed carbon*. Mekanisme kerjanya didasarkan pada reaksi oksidasi anodik p-nitrofenol hasil hidrolisis organofosfat yang dikatalisis oleh enzim OPH (**Gambar 2.5**) [10]:



**Gambar 2.5** Reaksi Oksidasi p-nitrofenol pada anoda

Arus oksidasi diukur pada saat potensial sel menunjukkan angka yang tetap dengan menggunakan potensiostat. Metode ini juga menggunakan elektroda pembanding Ag/AgCl, dan pada biosensor ini dihasilkan batas deteksi yang rendah yaitu  $9 \times 10^{-8}$  M. Tetapi biosensor ini hanya dapat digunakan untuk mendeteksi parathion, metil parathion, paraoxon, dan fenitrothion [10].

Pada pengembangan biosensor konduktometri organofosfat digunakan enzim organofosfat hidrolase yang diamobilisasikan pada membran kitosan secara adsorpsi pada pori membran kitosan [14]. Proses pengukuran biosensor konduktometri organofosfat didasarkan pada reaksi hidrolisis yang terjadi pada organofosfat diazinon yang dikatalisis oleh OPH dengan reaksi sebagai berikut [12]:



**Gambar 2.6** Reaksi Hidrolisis O,O-dietil-O-(2-isopropil-6-metil-4-pirimidil) fosforotioat

Reaksi hidrolisis enzimatik dari O,O-dietil-O-(2-isopropil-6-metil-4-pirimidil) fosforotioat (diazinon) adalah ion  $H^+$ , asam O,O-dietil fosforotioat, dan 2-isopropil-6-metilpirimidin-4-ol [12]. Besarnya konsentrasi ion  $H^+$  hasil dari reaksi hidrolisis organosfat, akan terbaca oleh transduser sebagai daya hantar larutan. Besarnya konsentrasi ion  $H^+$  yang terbentuk sangat dipengaruhi oleh reaksi enzimatik, sedangkan enzim sangat dipengaruhi oleh pH. Menurut Ningfeng, pH optimum OPH (organofosfat hidrolase) adalah berkisar antara 7,5-9,5 [15] dan OPH murni memiliki titik isoelektrik 7,4, sehingga bila pH larutan di atas titik isoelektrik maka enzim akan bermuatan negatif sehingga dapat menghidrolisis organofosfat melalui mekanisme reaksi  $S_N2$ . Selain itu O,O-dietil-O-(2-isopropil-6-metil-4-pirimidil) fosforotioat (diazinon) mudah larut pada pH 7,3 hingga 10,4, [16] sehingga sensitivitasnya tinggi. Oleh karena itu perlu dipelajari pengaruh pH terhadap kinerja biosensor konduktometri organofosfat.

### 2.3 Hipotesis

Berdasarkan teori pH akan berpengaruh terhadap aktivitas enzim, sehingga akan mempengaruhi kinerja biosensor. Kinerja biosensor akan maksimal bila dioperasikan pada pH optimum organofosfat hidrolase, yang berkisar antara pH 7,5 hingga 9,5.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Kimia Analitik, Biokimia, dan Kimia Instrumen, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai dengan bulan September 2011.

#### **3.2 Bahan dan Alat Penelitian**

##### **3.2.1 Bahan penelitian**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah organofosfat hidrolase hasil isolasi dari bakteri *Pseudomonas putida*, organofosfat diazinon, kitosan, glutaraldehid, larutan tris 0,05 M, padatan NaOH, larutan HCl 0,05 M, padatan  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , asam asetat glasial,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , buffer Tris-HCl pH 8 0,05 M, medium LB, reagen kasein, nutrisi agar, reagen biuret,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , garam mineral, sukrosa 20%, padatan NaEDTA dan akuades.

##### **3.2.2 Alat penelitian**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain inkubator (Heraeus tipe B-5042), jarum otse, sentrifuge dingin Jouan (tipe MR 18-22), autoklav (All American Model 25X), shaker (Edmund tipe 25), pH meter (schoot-gerate tipe CG.820), neraca ohaus, digital multimeter (Sanwa CD 800 a), oven, pembakar spiritus, freezer, sentrifuge, magnetik stirer (Ikamag RH), spektrofotometer UV-Vis, kawat gigi stenles stels (diameter 0,5 mm) dan beberapa peralatan gelas.

#### **3.3 Tahapan Penelitian**

1. Pembuatan organofosfat hidrolase
2. Pembuatan buffer Tris-HCl
3. Pembuatan larutan kitosan
4. Pembuatan elektroda
5. Amobilisasi organofosfat hidrolase pada membran kitosan
6. Pembuatan larutan organofosfat diazinon 0 hingga 10 ppm pH 7,5; 8,0; 8,5; 9,0; 9,5

## 7. Analisa data

### 3.4 Prosedur Kerja Penelitian

#### 3.4.1 Pembuatan larutan kitosan

Membran kitosan dibuat dengan cara 0,4 g kitosan ditimbang dan ditambahkan 3 ml larutan asam asetat glasial, kemudian ditambahkan 9 ml akuades dan diaduk menggunakan stirer selama 24 jam dalam temperatur kamar. Setelah itu ditambahkan 1 tetes larutan glutaraldehid 0,01 % (v/v) dan diaduk [34], kemudian didiamkan selama 2 jam [35].

#### 3.4.2 Pembuatan elektroda

Kawat platina dipotong sepanjang 3 cm dan ujungnya dibentuk berlekuk dengan luas daerah  $0,3 \times 0,3 \text{ cm}^2$ . Kemudian membran kitosan dilapiskan pada ujung kawat elektroda yang berlekuk sebanyak 3 lapisan, selanjutnya dikeringkan dalam oven selama 30 menit pada temperatur  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ . Setelah kering, kawat tersebut direndam dalam larutan NaOH 1 % (w/v) selama 30 menit untuk menetralkan membran tersebut. Selanjutnya, direndam dalam akuades selama 30 menit dan dikeringkan kembali selama 1 jam [35].

#### 3.4.3 Amobilisasi organofosfat hidrolase

Sebelum digunakan, elektroda dicelupkan dalam larutan asam asetat pH 4 selama 5 menit dan dibilas kembali dengan akuades. Kemudian direndam dalam larutan organofosfat hidrolase hasil dari isolasi bakteri *Pseudomonas putida* sebanyak 1 ml pada temperatur  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  lama amobilisasi 24 jam [36].

#### 3.4.4 Pembuatan larutan organofosfat diazinon 0 ppm hingga 20 ppm pH 7,5; 8,0; 8,5; 9,0; 9,5; dan 10

Larutan organofosfat diazinon 100 ppm dipipet 0, 2,5, 5, 10, 15, dan 20 ml dan dimasukkan dalam labu takar 100 ml. kemudian ditambahkan buffer tris-Cl pH 7,5; 8,0; 8,5; 9,0; dan 9,5 hingga tanda batas kemudian dikocok hingga homogen, sehingga menjadi 30 buah larutan diazinon.

#### 3.4.5 Analisa data

**a. Kepekaan**

Larutan organofosfat diazinon dengan konsentrasi 0 hingga 20 ppm pH 7,5 hingga 9,5 diukur hambatan larutan setiap 30 detik menggunakan elektroda dengan enzim selama 5 menit dan dihitung daya hantar larutan. Daya hantar yang diperoleh dibuat kurva hubungan antara daya hantar dengan konsentrasi organofosfat diazinon. Kurva yang terbentuk memiliki hubungan  $y = ax + b$ , dan kepekaan biosensor ditunjukkan oleh kemiringan garis atau slopenya (a).

**b. Batas Deteksi dan Kisaran Konsentrasi**

Larutan organofosfat diazinon dengan konsentrasi 0 hingga 30 ppm pH 9 diukur hambatan larutan setiap 30 detik menggunakan elektroda dengan enzim selama 5 menit dan dihitung daya hantar larutan. Daya hantar yang diperoleh dibuat kurva hubungan antara daya hantar dengan konsentrasi organofosfat diazinon. Dari kurva tersebut ditentukan daerah linier dan non linier. Kisaran konsentrasi ditentukan dari daerah linier. Batas deteksi ditentukan dari titik potong persamaan garis daerah linier dan daerah non linier. Nilai absis (sumbu x) dari titik potong menunjukkan batas deteksi biosensor tersebut.

**c. Waktu Respon**

Larutan organofosfat diazinon pH 9 pada kisaran konsentrasi diukur hambatan larutan setiap 30 detik menggunakan elektroda dengan enzim selama 5 menit, kemudian dihitung daya hantar larutan. Selanjutnya dibuat kurva hubungan antara daya hantar dengan waktu. Dari kurva tersebut ditentukan waktu pada saat daya hantar larutan organofosfat diazinon mulai memberikan harga yang relatif tetap. Waktu respon ditunjukkan oleh harga konduktansi yang relatif tetap.

**d. Lama Pemakaian**

Larutan organofosfat diazinon pH 9 pada kisaran konsentrasi diukur hambatan larutan setiap 30 detik menggunakan elektroda dengan enzim selama 5 menit dan dihitung daya hantar larutan. Pengukuran dilakukan sebanyak 2 kali dengan elektroda yang sama.

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Pengaruh pH Terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri Organofosfat

Pada penelitian ini, pH larutan dapat mempengaruhi kinerja biosensor konduktometri organofosfat, karena pH akan mempengaruhi aktivitas dari OPH. Kisaran pH yang digunakan pada penelitian ini adalah pH 7,5; 8; 8,5; 9; dan 9,5. Kisaran pH ini dipilih karena pada umumnya pH optimum dari OPH berada pada kisaran pH 7,5 hingga 9,5. Selain itu, O,O-dietil-O-(2-isopropil-6-metil-4-pirimidil) fosforotioat (diazinon) mudah mengalami hidrolisis pada pH 7,3 hingga 10,4 [16]. Pengukuran daya hantar larutan dilakukan sesuai dengan metode 3.4.5. pada penelitian ini pH larutan diazinon berpengaruh terhadap kinerja biosensor konduktometri organofosfat. Berdasarkan tabel 4.1 diketahui bahwa pH larutan berpengaruh terhadap kepekaan, kisaran konsentrasi biosensor dan batas deteksi. Penentuan kepekaan, standar deviasi, linieritas, dan kisaran konsentrasi didasarkan data yang ditunjukkan pada Lampiran C.

**Tabel 4.1** Pengaruh pH larutan terhadap kepekaan dan linieritas biosensor konduktometri organofosfat pada kisaran konsentrasi 0-20 ppm

pH	Kepekaan (nmho/ppm)	Standar deviasi	linieritas	Kisaran Konsentrasi (ppm)
7,5	2,314	17,10	1	0 hingga 2,5
8	1,944	11,36	0,994	0 hingga 20
8,5	2,989	9,94	0,999	10 hingga 20
9	1,922	2,31	0,989	0 hingga 20
9,5	1,747	10,39	1	15 hingga 20

Berdasarkan tabel 4.1, biosensor konduktometri organofosfat pada pH 7,5 memiliki kisaran konsentrasi yang rendah yaitu 0 hingga

2,5 ppm, meskipun kepekaan dan linieritas pada pH 7 tinggi yaitu 2,314 dan 1. Kisaran konsentrasi pada pH 7,5 rendah disebabkan karena pH 7,5 mendekati titik isoelektrik dari organofosfat hidrolase yaitu 7,4. Pada pH 7,5 enzim organofosfat hidrolase masih terpengaruh oleh keadaan zwiter ion yang memiliki muatan netto nol, sedangkan untuk mengkatalisis reaksi hidrolisis diazinon membutuhkan OPH dengan muatan negatif. Enzim memiliki muatan negatif bila nilai pH larutan di atas titik isoelektrik. Karena organofosfat hidrolase masih terpengaruh oleh keadaan zwiter ion, maka OPH sulit mengkatalisis reaksi hidrolisis organofosfat [16].

Pada pH 8,0 menghasilkan kisaran konsentrasi yang lebar yaitu 0 hingga 20 ppm, tingkat kepekaan dan linieritas yang tinggi yaitu 1,944 dan 0,994, akan tetapi standar deviasi (ketelitian pembacaan) pada pH 8 sangat besar yaitu 11,36, sehingga pH 8 bukan pH optimum biosensor. Sedangkan pada pH 9 memiliki kisaran konsentrasi yang sama dengan pH 8, tetapi kepekaan dan linieritas pH 9 lebih rendah daripada pH 8 yaitu 1,922 dan 0,989. Meskipun begitu pengukuran pada pH 9 menghasilkan standar deviasi yang paling rendah yaitu 2,31, sehingga pH 9 merupakan pH optimum biosensor. Hal ini dapat terjadi karena pada penelitian ini metode amobilisasi OPH pada membran kitosan yang digunakan adalah metode adsorpsi fisik, sehingga sisi aktif dari OPH tidak mengalami perubahan dan pH optimum dari OPH amobil akan sama dengan pH optimum dari OPH pada keadaan bebas [37].

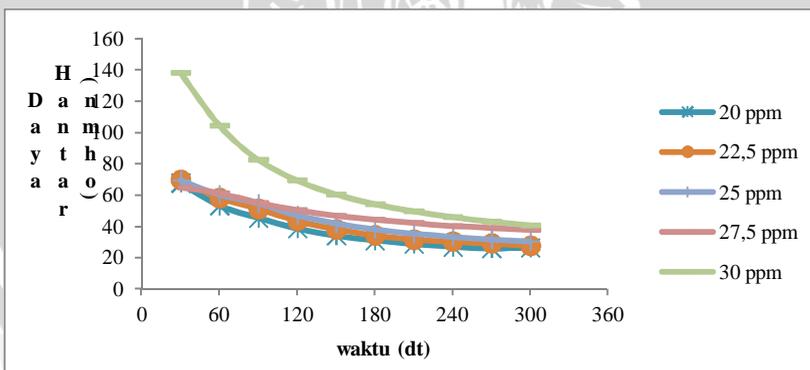
Menurut Mulchandani dkk, organofosfat amobil memiliki pH optimum 8,5 [10], tetapi pada penelitian ini pengukuran pada pH 8,5 memiliki kisaran konsentrasi yang rendah yaitu 10 hingga 20 ppm, dengan kepekaan 2,989 dan linieritas 0,999. Hal ini dapat terjadi karena pada penelitian yang dilakukan Mulchandani amobilisasinya menggunakan metode ikatan silang, yaitu terjadi ikatan antara enzim dengan matriks pendukung (membran). Hal ini menyebabkan terjadi perubahan sisi aktif enzim, sehingga pH optimum organofosfat hidrolase akan mengalami perubahan. Sedangkan pada penelitian ini metode amobilisasi yang digunakan adalah metode adsorpsi (penyerapan), dalam metode ini hanya ada interaksi antara enzim dengan matriks pendukung (membran). Dengan metode ini enzim tidak akan mengalami perubahan sisi aktif, sehingga pH optimum enzim juga tidak akan berubah [37].

Pada pH 9,5 menghasilkan kisaran konsentrasi yang sempit yaitu 15 hingga 20, sehingga tidak dapat memenuhi kriteria biosensor yang baik. Kisaran konsentrasi yang sempit ini disebabkan oleh rendahnya kestabilan buffer Tris-HCl pada pH 9,5, sehingga akan mempengaruhi pengukuran dan dapat menurunkan kepekaan biosensor. Selain itu, pada pH 9,5 ion OH<sup>-</sup> dalam larutan diazinon lebih banyak daripada pH 9, sehingga kedua sisi aktif OPH akan cenderung mengikat ion OH<sup>-</sup>. Dan dapat disimpulkan bahwa kinerja biosensor konduktometri akan maksimal pada pH 9.

#### 4.2 Karakteristik Biosensor Konduktometri Organofosfat

Karakterisasi biosensor konduktometri dilakukan pada pH optimum yaitu pH 9, temperatur 25 °C dan digunakan elektroda bermembran kitosan sebanyak 3 lapis. Banyaknya lapisan membran pada elektroda bertujuan untuk megoptimalkan kinerja organofosfat hidrolase amobil, karena semakin tebal membran yang digunakan maka enzim organofosfat hidrolase yang teramobilkan semakin banyak dan reaksi enzimatik akan berjalan lebih optimal. Pada karakterisasi biosensor konduktometri organofosfat meliputi waktu respon, kisaran konsentrasi, batas deteksi, dan efisiensi.

Waktu respon untuk biosensor dapat bervariasi mulai dari beberapa detik hingga beberapa menit. Untuk waktu diatas 5 menit sangat cocok digunakan untuk biosensor, dan jika melebihi 10 menit maka tidak layak untuk digunakan [8]. Waktu respon juga menunjukkan terjadinya pergeseran reaksi ke arah produk.



**Gambar 4.1** Grafik hubungan daya hantar larutan organofosfat diazinon terhadap waktu pada konsentrasi 20-30 ppm

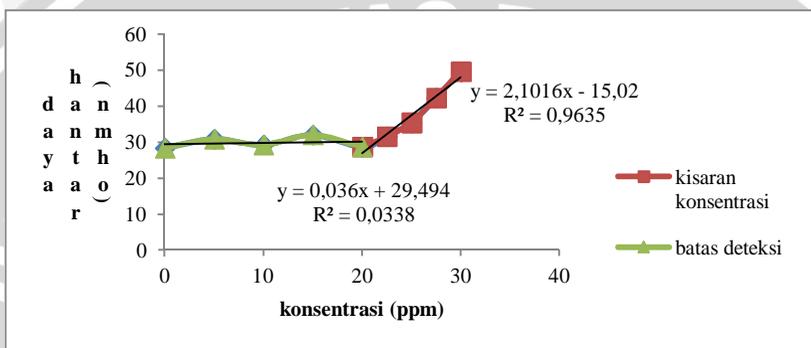
Pada penelitian ini waktu respon ditentukan dengan cara mengukur daya hantar larutan organofosfat diazinon pada konsentrasi 20-30 ppm setiap 30 detik hingga diperoleh nilai yang relatif konstan, selanjutnya dibuat kurva hubungan antara daya hantar dengan waktu pada konsentrasi 20 hingga 30 ppm. Hasil pengukuran untuk penentuan waktu respon ditunjukkan oleh **Gambar 4.1.**

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa besarnya konsentrasi larutan organofosfat diazinon mempengaruhi waktu respon. Berdasarkan gambar 4.1, diketahui bahwa semakin besar konsentrasi larutan diazinon maka waktu responnya juga semakin lama. Hal ini dapat terjadi karena kandungan diazinon dalam larutan sangat banyak, sehingga untuk membentuk kompleks enzim substrat dan pencapaian kesetimbangan membutuhkan waktu yang lama, serta pergeseran reaksi menuju ke arah terbentuknya produk juga membutuhkan waktu yang lama. Dari gambar di atas dapat diketahui bahwa waktu respon untuk biosensor konduktometri adalah 180 detik.

Kisaran konsentrasi merupakan daerah dimana biosensor konduktometri organofosfat menunjukkan hasil pengukuran yang kuantitatif. Kisaran konsentrasi ditentukan pada daerah linier hubungan antara daya hantar dengan perubahan konsentrasi larutan organofosfat diazinon. Sedangkan batas deteksi atau limit deteksi merupakan konsentrasi organofosfat terendah yang dapat dideteksi oleh biosensor konduktometri organofosfat. Batas deteksi ditentukan oleh titik potong pada persamaan garis singgung daerah linier dan daerah non linier, nilai konsentrasi (sumbu x) pada titik potong tersebut menunjukkan batas deteksi dari biosensor konduktometri organofosfat.

Penentuan kisaran konsentrasi dan batas deteksi dilakukan dengan cara mengukur daya hantar larutan organofosfat diazinon dengan konsentrasi 0-30 ppm menggunakan biosensor konduktometri organofosfat (elektroda dengan enzim) pada pH 9 yang ditunjukkan pada gambar 4.2. Biosensor yang baik adalah biosensor yang memiliki kisaran konsentrasi yang panjang dan batas deteksi yang kecil. Dari gambar 4.2 dapat diketahui kisaran konsentrasi biosensor konduktometri organofosfat adalah 20 ppm hingga 30 ppm dengan kepekaan 2,101 nmho/ppm dan linieritas 0,963. Batas deteksi biosensor konduktometri organofosfat adalah

21,55 ppm. Batas deteksi yang tinggi ini disebabkan oleh enzim organofosfat yang sudah tidak aktif lagi, sehingga tidak dapat mempercepat reaksi hidrolisis organofosfat diazinon menjadi  $H^+$ , asam O,O dietil phosphorothioic, dan 2-isopropil-6-metilpirimidin-4-ol. Karena batas deteksi cukup besar yaitu 21,55 ppm, maka biosensor konduktometri organofosfat ini tidak dapat digunakan untuk mendeteksi residu organofosfat diazinon pada makanan.



**Gambar 4.2** Grafik hubungan antara daya hantar dengan konsentrasi organofosfat pada konsentrasi 0-30 ppm

Biosensor konduktometri organofosfat ini hanya dapat digunakan untuk sekali pengukuran saja. Pada penelitian ini metode amobilisasi enzim menggunakan metode adsorpsi, metode ini dipilih karena metode ini cukup sederhana dan cepat. Selain itu dengan menggunakan metode adsorpsi tidak terjadi perubahan konformasi sisi aktif enzim sehingga aktivitas enzim tidak berubah. Karena metode adsorpsi merupakan metode yang sederhana, sehingga enzim tidak cukup kuat menempel pada membran kitosan. Pada metode adsorpsi terbentuk interaksi yang lemah berupa ikatan van der Waals antara gugus aktif enzim dengan lapisan permukaan membran kitosan sehingga enzim mudah lepas.

Lifetime (lama pemakaian) biosensor yang menggunakan metode amobilisasi adsorpsi adalah 1 hari, sehingga bila dilakukan pengukuran dalam jangka waktu yang lama akan menurunkan tingkat kepekaan biosensor konduktometri organofosfat, parameter ini disebut lama pemakaian. Lama pemakaian biosensor konduktometri organofosfat dilakukan cara mengukur daya hantar larutan

organofosfat diazinon pada konsentrasi 0 hingga 30 ppm secara berulang kali dengan menggunakan elektroda yang sama sebanyak 2 pengukuran dan jumlah sampel sebanyak 18 larutan.

Penentuan lama pemakaian biosensor konduktometri organofosfat ditunjukkan pada tabel 4.2. Selain itu, semakin sering atau lama elektroda tersebut terendam dalam larutan maka membran kitosan yang ada pada elektroda tersebut akan semakin mengembang dan ikatan silang dengan glutaraldehid akan semakin bekurang. Berkurangnya ikatan silang ini akan berakibat pada berkurangnya jumlah pori sehingga enzim akan mudah lepas dalam larutan dan tidak dapat digunakan untuk pembacaan selanjutnya.

**Tabel 4.2** Hubungan jumlah pemakaian, kepekaan dan kisaran konsentrasi

	Pemakaian ke-1 (9 larutan)		Pemakaian ke-2 (18 larutan)	
	Elektroda A	Elektroda B	Elektroda A	Elektroda B
Kepekaan	2,134	2,068	0,246	1,623
Linieritas	0,950	0,972	1	1
Kisaran Konsentrasi (ppm)	20 hingga 30 ppm	20 hingga 30 ppm	27,5 hingga 30 ppm	27,5 hingga 30 ppm

Berdasarkan tabel 4.2 kepekaan dan linieritas biosensor konduktometri organofosfat relatif tinggi pada pengukuran pertama yaitu sebesar 2,134 dan 2,068 nmho/ppm serta 0,950 dan 0,972, sedangkan pada pengukuran ke-2 memiliki kepekaan dan linieritas 0,246 dan 1,623 nmho/ppm serta 1. Penurunan nilai kepekaan dan linieritas yang ditunjukkan pada Lampiran D.3 (Tabel D.4 dan Tabel D.5) disebabkan oleh enzim organofosfat hidrolase yang terikat pada membran kitosan secara adsorpsi terlepas dari matriks amobilisasi ke dalam larutan organofosfat diazinon pada saat pengukuran berlangsung. Bila enzim yang terlepas semakin banyak maka reaksi hidrolisis pada larutan berikutnya akan berjalan sangat lambat dan daya hantar larutan akan turun karena jumlah ion  $H^+$  dalam larutan semakin sedikit.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kinerja biosensor konduktometri organofosfat dipengaruhi oleh pH. Biosensor konduktometri organofosfat yang telah dirancang menunjukkan kinerja maksimum pada pH 9. Kinerja biosensor konduktometri organofosfat pada pH optimum memiliki kepekaan 2,101 nmho/ppm pada konsentrasi 20 hingga 30 ppm dengan batas deteksi 20 ppm dan waktu respon 180 detik. Biosensor konduktometri organofosfat ini dapat digunakan untuk mengukur 9 larutan sampel.

#### **5.2 Saran**

Penelitian ini masih perlu dikembangkan terutama membran kitosan sebaiknya menggunakan membran lain yang memiliki sifat hidrofilitas rendah, sehingga tidak mudah rusak. Dan pada saat pelapisan membran pada elektroda sebaiknya menggunakan alat khusus supaya ketebalan membran dapat seragam dan menghasilkan kepekaan yang tinggi. Selain itu jarak antar elektroda perlu diperkecil agar didapatkan sinyal pengukuran yang lebih baik.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Anonim<sup>1</sup>, 2000, **Metodologi Standar Lingkungan Volume 1 – Proses dan SOP**, BRNP, EMS, BAPEDAL, Jakarta
- [2] Anonim<sup>2</sup>, 2008, **Batas Maksimum Residu Pestisida pada Hasil Pertanian**, BSNI, 7313, Jakarta
- [3] Anonim<sup>3</sup>, 1996, **Batas Maksimum Residu Pestisida pada Hasil Pertanian**, MENKES/SKB, Jakarta
- [4] Prijanto, T. B., 2009, **Analisis Faktor Risiko Keracunan Pestisida Organofosfat pada Keluarga Petani Hortikultura di Kecamatan Ngablak Kabupaten Magelang**, *Tesis*, Jurusan Magister Lingkungan Universitas Diponegoro, Semarang, hlm. 28
- [5] Syahbirin, G., H. Purnama, dan D. Prijono, 2001, **Residu Pestisida pada Tiga Jenis Buah Impor**, *Buletin Kimia*; **1**: 113-118
- [6] Çoban, S., 2008, **Development Of Biosensors For Determination Of The Total Antioxidant Capacity**, *Tesis* İzmir Institute of Technology
- [7] Grieshaber, D., R. MacKenzie, J. Vörös dan E. Reimhult, 2008, **Electrochemical Biosensors-Sensor Principles and Architectures**, *Sensors*; **8**: 1400-1458
- [8] Eggins, B. R, 2002, **Chemical Sensor and Biosensors**, John Willey & Sons, Ltd:West Sussex.
- [9] Mulchandani, A., M. Priti dan W. Chen, 1999, **Biosensor for Direct Determination of Organophosphate Nerve Agents 1. Potentiometric Enzyme Electrode**. *Biosensor and Bioelectronics*; **14**: 77-85.

- [10] Mulchandani, A., P. Mulchandani and W. Chen, 2001, Amperometric Thick-Film Strip Electrodes for Monitoring Organophosphate Nerve Agents Based on Immobilized Organophosphorus Hydrolase. *Anal. Chem.*: **71**: 2246-2249
- [11] Ghourchian, H., M. Rad, Ahmad and E. Hossein, 2004, A Conductometric Urea Biosensors by Direct Immobilization of Urease on Pt Electrode, *Iran. J. Chem. & Chem. Eng.*; **23**
- [12] Wyer, M., 2008, **Metal Ion Promoted Hydrolysis of the Organophosphorus Pesticide, Diazinon**, *Tesis*. Ontario : Martin Wyer
- [13] Garcia, M. N. V. dan T. Mottram, 2003, Biosensor Technology Addressing Agricultural Problems, *Biosystems Engineering*; **84**: 1-12
- [14] Gu, Z. Y, Xue, dan Li, 2001, Preperation of the Porous Chitosan Membran by Cryogenic Induced Phase Separation, Polimer of Advanced Technology, *Polymer of advanced technology*; **53**: 665-669
- [15] Ningfeng, W., D. Minjie, S. Xiuyun, L. Guoyi, Y. Bin dan F. Yunliu, 2004, Isolation, Purification and Characterization of a New Organphosphorus Hydrolase OPHC2, *Chinese Science Bulletin (2004)*; **49**: 268-272
- [16] Bazrafshan, E., A. H. Mahvi, S. Nasser, dan M. Shaieghi, 2007, Performance Evaluation of Electrocoagulation Process for Diazinon Removal from Aqueous Environments by Using Iron Electrodes, *Iran J Environ Health. Sci. Eng.*; **4**: No 2, pp 127-132
- [17] Wang, J, 2000, **Analytical Electrochemistry**, 2nd ed, John Willey and Sons, Inc, New York. hlm. 175-189

- [18] Wicaksono, D. H. B., 2000, **Biosensor Introduction**, Tokyo Institute of Technology, Jepang, hlm. 79-80
- [19] Evans, A., 2000, **Potentiometry and Ion Selective Elektrodes**, John Willey and Sons, New York, hlm. 61-69, 198-209
- [20] Coury, L., 1999, **Conductance Measurements**, [www.Current-separations.com/issue/18-3/sc18-3.pdf](http://www.Current-separations.com/issue/18-3/sc18-3.pdf)
- [21] Rabbani, K. S., 2009, **Conductometer**, Dhaka University
- [22] Wang, X., L. Chen, S. Xia, Z. Zhu, J. Zhao, J. M. Chovelon dan N. J. Renault, 2006, Tyrosinase Biosensor Based on Interdigitated Electrodes for Herbicides Determination, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 1(2006)55-61; 1
- [23] Zhang, Z., S. Xia, D. Leonard, N. J. Renault, J. Zhang, F. Bessueille, Y. Goepfert, X. Wang, L. Chen, Z. Zhu, J. Zhao, M. G. Almeida dan C. M. Silveira, 2009, A Novel Nitrite Biosensor Based on Conductometric Electrode Modified With Cytochrome C Nitrite Reductase Composite Membrane, *Biosensors and Bioelectronics* (2009); **24**: 1574–1579
- [24] Renault, N. J., dan S. V. Dzyadevych, 2008, Conductometric Microbiosensors for Environmental Monitoring, *Sensors*; **8**: 2569-2588
- [25] Lehninger, A. L., 1991, **Dasar-dasar Biokimia Jilid I**, Terjemahan. Therawijaya, Erlangga, Jakarta
- [26] Efremenko, E. N dan V. S. Sergeeva, 2001, Organophosphate Hydrolase an Enzyme Catalyzing Degradation of Phosphorus Containig Toxins and Pesticides, *Rusian Chemical Bulletin*; **50**: 1826-1832

- [27] Illanes, A., 2008, **Enzyme Biocatalysis Principles and Application**, Springer Science, Chile
- [28] Mikkelsen, S. R., dan Eduardo C., 2004, **Bioanalytical Chemistry**, John Wiley & Sons, Inc, New York
- [29] Sugita, P., B. Srijanto, B. Arifin dan E. V. Setyowati, 2009, Stability of Ketoprofen Coated by Chitosan-Guar Gum Gel, *Indo. J. Chem.*, 2009; **9**: 391-397
- [30] Xiaoli, Z., and Dagang, 2005, **Preparation and Characterization of Porous Chitosan Membrans and the Localization of the Activity of Urease immobilizedo on it by SEM and X-ray Microanalysis**, www.chemistrymag.org.
- [31] Chen, Po-Hui, Ya-Hsi H., Ting-Yun K., Fang-Hsuan L., Juin-Yih L., and Hsyue-Jen H., 2006, Improvement in the Properties of Chitosan Membranes Using Natural Organic Acid Solution as Solvent for Chitosan Dissolution, *Jurnal of Medical and Biological Engineering*; **27**: 23-28
- [32] Goncalves, V. L., M. C. M. Laranjeira dan V. T. Favera, 2005, Effect of Crosslinking Agent on Chitosan Microspheres in Controlled Release of Diclofenac Sodium, *Polimeros Ciencia e Tecnologia*; **15**
- [33] NRA, 2002, **NRA Review of Diazinon**, National Registration Authority for Agricultural & Veterinary Chemicals, Canberra
- [34] Sari, D. P., 2010, **Pengaruh Konsentrasi Ba(IO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> dan Ketebalan Membran Kitosan terhadap Kinerja Elektroda Selektif Ion (ESI) Iodat**, *Skripsi*, Jurusan Kimia Universitas Brawijaya, Malang
- [35] Mulyasuryani, A. dan A. Srihardiastutie, 2011, Conductimetric Biosensor for the Detection of Uric Acid by Immobilization Uricase on nata de coco Membrane-Pt electrode, *Analytical Chemistry Insights 2011*; **6**: 47-51.

- [36] Lesmana, D., 2010, **Pengaruh Jumlah Urease Terhadap Kinerja Biosensor Potensiometri Urea yang Terbuat dari Kitosan**, *Skripsi*, Jurusan Kimia Universitas Brawijaya, Malang
- [37] Walker, J. M., dan R. Raply, 2009, **Molecular Biology and Biotechnology 5th Edition**, The Royal Society of Chemistry, Cambridge
- [38] Fasya, G. A., 2004, **Isolasi Pemurnian dan Karakterisasi Enzim Dehalogenase-4 klorofenol dari Pseudomonas putida**, *Skripsi*, Jurusan Kimia Universitas Brawijaya, Malang, hlm. 13-18
- [39] Prakoso, B. N., 2010, **Pengaruh Konsentrasi Glutaraldehid terhadap kinerja Biosensor Konduktometri Asam Urat Menggunakan Membran nata de coco**, *Skripsi*, Jurusan Kimia Fakultas Mipa Universitas Brawijaya, Malang

## LAMPIRAN

### Lampiran A. Isolasi Organofosfat Hidrolase

#### A.1 Pembuatan Media Padat Agar Miring

Nutrien agar 1,5 gram dilarutkan dengan akuades hingga volume 100 ml, kemudian dipanaskan hingga mendidih selama 10 menit lalu dimasukkan ke dalam 10 tabung reaksi masing-masing 7 ml dan ditutup dengan kapas. Tabung-tabung tersebut disterilkan dalam autoklaf pada temperatur 121 °C dan ditekan 15 Psi selama 15 menit. Setelah itu diletakkan dalam posisi miring dan dibiarkan mengeras pada temperatur kamar selama 24 jam [38].

#### A.2 Media Pertumbuhan

Media pertumbuhan dibuat sebanyak 100 ml dengan komposisi 80 ml garam mineral yang sudah disterilkan, kemudian ditambah 10 ml larutan sukrosa 20 % steril dan 10 ml larutan diazinon 100 ppm [38].

#### A.3 Peremajaan dan Pemurnian Biakan

Bakteri dibiakkan dengan cara, bakteri *Pseudomonas putida* digoreskan pada media padat agar miring menggunakan ujung jarum ose secara aseptik yaitu dengan mendekatkan mulut tabung pada nyala api pada saat menggoreskan jarum ose, sebelum digunakan jarum ose harus disterilkan dengan cara dipanaskan. Kemudian ditutup kembali dengan kapas steril. Kemudian diinkubasi pada 30 °C selama 2 hari dan disimpan dalam lemari es [38].

#### A.4 Pembuatan Biakan Aktif (Inokulum)

Satu tabung subkultur biakan murni *Pseudomonas putida* dibiakkan dalam 100 ml media cair dan diinkubasi dalam inkubator goyang dengan kecepatan 125 rpm pada temperatur kamar selama 2 hari [38].

#### A.5 Produksi dan Isolasi Enzim

Sebanyak 100 ml larutan inokulum diinokulasikan ke dalam 1000 ml media pertumbuhan dan diinkubasi pada inkubator goyang dengan kecepatan putar 125 rpm pada temperatur kamar selama 24 jam. Selanjutnya media pertumbuhan disentrifugasi dingin dengan

kecepatan putar 3000 rpm selama 30 menit. Endapan sel dicuci tiga kali dengan buffer tris-Cl 0,05 M pH 8. Endapan sel yang diperoleh ditambah dengan 3 ml larutan buffer tris-Cl 0,05 M pH 8 lalu dinding sel dipecah dengan mortar dan dengan bantuan serbuk kaca. Selanjutnya disentrifugasi dingin dengan kecepatan putar 3000 rpm selama 30 menit. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim organofosfat hidrolase, kemudian dipisahkan dari endapan dan disimpan dalam refrigerator [38].

#### **A.6 Pembuatan Kurva Kasein**

Disiapkan beberapa tabung reaksi yang masing-masing diisi dengan 2 ml larutan baku kasein dengan variasi konsentrasi 2000, 4000, 6000, 8000, dan 10.000 ppm. Kemudian masing-masing variasi konsentrasi ditambah 8 ml reagen biuret dan 1 ml akuades lalu dikocok dan didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya diukur serapannya menggunakan spektrometri UV pada panjang gelombang maksimum reagen kasein [39].

#### **A.7 Penentuan Kadar Protein**

Penentuan kadar protein dilakukan dengan metode biuret. Sebanyak 2 ml enzim ditambah dengan 1 ml air dan 8 ml reagen biuret, setelah itu dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada temperatur kamar. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum kasein. Hasil pengukuran diinterpolasikan ke dalam kurva baku kasein, sehingga didapatkan kadar protein dalam sampel [39].

### **Lampiran B. Pembuatan Larutan**

#### **B.1 Pembuatan Larutan Konsentrat Garam**

Konsentrat garam dibuat dengan cara mencampurkan 2,80 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 5,7 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , dan 2,20 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , kemudian dilarutkan dengan sedikit akuades dalam gelas kimia. Selanjutnya larutan tersebut dipindahkan dalam labu takar 100 ml dan ditambahkan akuades hingga tanda batas [38].

#### **B.2 Pembuatan Larutan Elemen Renik**

Larutan elemen renik dibuat dengan cara mencampurkan 0,01 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 0,1 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 2,00 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,2 g  $\text{NaOH}$ , 1,30 g  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  dan 0,5 g  $\text{ZnSO}_4$ , kemudian dilarutkan

dengan sedikit akuades. Selanjutnya ditambahkan dengan 0,50 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan diaduk hingga larut. Larutan tersebut dipindahkan dalam labu takar 100 ml dan ditambah dengan akuades hingga tanda batas [38].

### **B.3 Pembuatan Larutan Garam Mineral**

Larutan garam mineral dibuat dengan cara mencampurkan 8 ml konsentrat garam, 0,05 g ekstrak yeast dan 1,00 ml larutan elamen renik, kemudian dilarutkan dengan sedikit akuades. Selanjutnya larutan tersebut dipindahkan dalam labu takar 100 ml dan ditambah akuades hingga tanda batas [38].

### **B.4 Pembuatan Larutan Sukrosa 20%**

Serbuk padatan sukrosa ditimbang 20 g dan dilarutkan dengan sedikit akuades. Selanjutnya dipindahkan dalam labu takar 100 ml dan ditambah akuades hingga tanda batas [38].

### **B.5 Pembuatan Larutan Glutaraldehid 0,01%**

Larutan glutaraldehid 25% dipipet 0,2 mL (0,2 mL  $\cong$  4 tetes) dan dimasukkan dalam labu takar 500 ml, selanjutnya ditambahkan akuades hingga tanda batas [34].

$$V_{\text{glutaraldehid 25\%}} = \frac{0,01\%}{25\%} \times 500 \text{ mL}$$

$$= 0,2 \text{ mL} \cong 4 \text{ tetes}$$

### **B.6 Pembuatan Larutan NaOH 1% (w/v)**

Padatan NaOH ditimbang sebanyak 1 g dan dilarutkan dengan sedikit akuades. Larutan tersebut dipindahkan dalam labu takar 100 ml dan ditambahkan akuades hingga tanda batas [35].

### **B.7 Larutan asam asetat pH 4**

Larutan asam asetat glasial dipipet 0,57 ml dengan pipet 1 ml dan dimasukkan dalam labu takar 100 ml, selanjutnya ditambahkan akuades hingga tanda batas. Terbentuk larutan asam asetat 0,1 M, larutan tersebut dipipet 0,57 ml dengan pipet 1 ml dan dimasukkan dalam labu takar 100 ml, kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas dan diukur pH-nya menggunakan pH-meter yang telah dikalibrasi [36].

## B.8 Larutan Tris 0,2 M

Padatan tris ditimbang 2,4428 g dan dilarutkan dengan sedikit akuades. Selanjutnya larutan tersebut dipindahkan dalam labu takar 100 ml dan ditambahkan akuades hingga tanda batas.

$$\text{BM Tris } 121,14 \text{ g/mol}$$

$$\text{Volume Tris } 100 \text{ ml}$$

$$\text{Konsentrasi Tris } 0,2 \text{ M}$$

$$\text{Mol Tris} = \text{konsentrasi Tris} \times \text{volume Tris}$$

$$= 0,2 \text{ mmol/ml} \times 100 \text{ ml}$$

$$= 20 \text{ mmol} = 0,02 \text{ mol}$$

$$\text{Massa Tris} = \text{mol Tris} \times \text{BM Tris}$$

$$= 0,02 \text{ mol} \times 121,14 \text{ g/mol}$$

$$= 2,4428 \text{ g}$$

## B.9 Pembuatan Larutan Buffer Tris-Cl dengan berbagai pH

### B.9.1 Pembuatan larutan buffer Tris-Cl pH 8 0,05 M

Larutan Tris 0,2 M dituangkan ke dalam gelas kimia sebanyak 50 ml, selanjutnya ditambahkan 27,27 ml larutan HCl 0,2 M. Larutan tersebut diaduk, kemudian ditambahkan akuades hingga 200 ml dan diukur pH-nya menggunakan pH-meter.



$$\text{Mol Tris} = 0,2 \text{ mmol/mL} \times 50 \text{ mL}$$

$$= 10 \text{ mmol}$$

$$= 0,01 \text{ mol}$$

$$[\text{H}^+] = K_a \times \frac{\text{mol HCl}}{\text{mol Tris sisa}}$$

$$10^{-8} = 8,31 \times 10^{-9} \times \frac{\text{mol HCl}}{0,01 - \text{mol HCl}}$$

$$1,203 = \frac{\text{mol HCl}}{0,01 - \text{mol HCl}}$$

$$\text{Mol HCl} = 0,0055 \text{ mol}$$

$$\begin{aligned} \text{Volume HCl} &= \frac{0,0055 \text{ mol}}{0,2 \frac{\text{mol}}{\text{L}}} \\ &= 0,0275 = 27,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

### B.9.2 Pembuatan larutan buffer Tris-Cl pH 7,5 0,01 M

Larutan Tris 0,05 M dituang ke dalam gelas kimia 500 mL sebanyak 100 mL, kemudian ditambahkan 79,21 mL larutan HCl 0,05 M. Selanjutnya larutan tersebut ditambahkan akuades hingga volumenya 500 mL dan diukur pH larutan dengan pH- meter yang telah dikalibrasi.

$$\begin{aligned} \text{Mol Tris} &= 0,05 \text{ mmol/mL} \times 100 \text{ mL} \\ &= 5 \text{ mmol} \\ &= 0,005 \text{ mol} \end{aligned}$$

$$[\text{H}^+] = K_a \times \frac{\text{mol HCl}}{\text{mol Tris sisa}}$$

$$10^{-7.5} = 8,31 \times 10^{-9} \times \frac{\text{mol HCl}}{0,005 - \text{mol HCl}}$$

$$3,805 = \frac{\text{mol HCl}}{0,005 - \text{mol HCl}}$$

$$\text{Mol HCl} = 0,00396 \text{ mol}$$

$$\begin{aligned} \text{Volume HCl} &= \frac{0,00396 \text{ mol}}{0,05 \frac{\text{mol}}{\text{L}}} \\ &= 0,07921 \text{ L} = 79,21 \text{ mL} \end{aligned}$$

**Tabel B.1** Komposisi larutan buffer Tris-Cl pada berbagai pH dengan konsentrasi 0,01 M

pH	Volume Tris 0,05 M yang diambil (mL)	Volume HCl 0,05 M yang diambil (mL)	Volume akhir larutan setelah ditambah akuades (mL)
8	100	54,62	500
8,5	100	27,56	500
9	100	10,74	500
9,5	100	3,67	500

## **B.10 Larutan NaOH 10% (w/v)**

Padatan NaOH ditimbang 10 g dan dilarutkan dengan sedikit akuades. Selanjutnya larutan dipindahkan dalam labu takar 100 ml dan ditambah akuades hingga tanda batas [39].

## **B.11 Larutan Biuret**

Larutan biuret dibuat dengan cara melarutkan 0,15 gram  $\text{CuSO}_4$  dan 0,6 gram Na-K-Tartrat dengan akuades bebas karbonat di dalam gelas kimia 250 ml. Selanjutnya ditambahkan dengan 30 ml larutan NaOH 10 %. Kemudian larutan ini ditandabatkan dan dikocok hingga homogen dengan akuades di dalam labu ukur 100 ml.

## **B.12 Pembuatan Larutan uji diazinon pH 9**

### **B.12.1 Pembuatan larutan diazinon 40 ppm**

Larutan pekat diazinon dipipet dengan mikropipet sebanyak 33,33  $\mu\text{L}$  lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 500 mL. Setelah itu ditandabatkan dengan akuades kemudian dikocok hingga homogen.

Konsentrasi diazinon pekat = 600 g/L = 600000 mg/L = 600000 ppm  
Massa diazinon sebelum diencerkan = massa diazinon setelah diencerkan

$$40 \text{ ppm} \times 500 \text{ ml} = 600000 \text{ ppm} \times V \text{ diazinon pekat}$$

$$V \text{ diazinon pekat} = \frac{40 \text{ ppm} \times 500 \text{ mL}}{600000 \text{ ppm}}$$

$$= 0,03333 \text{ ml}$$

### **B.12.2 Pembuatan larutan uji diazinon**

Larutan uji diazinon yang akan dibuat adalah 0 ; 5 ; 10 ; 15 ; 20 ; 22,5 ; 25 ; 27,5 ; 30 ppm. Larutan uji ini dibuat dengan cara memipet x ml larutan uji diazinon 40 ppm dengan bantuan pipet ukur 10 ml dan 1 ml lalu dipindahkan ke dalam labu ukur 100 ml. Larutan ini lalu ditambahkan dengan larutan buffer Tris – Cl pH 9 hingga tanda batas.

Perhitungan untuk larutan uji diazinon 5 ppm :

Massa diazinon setelah diencerkan = massa diazinon sebelum diencerkan

$$5 \text{ ppm} \times 100 \text{ ml} = 40 \text{ ppm} \times V \text{ diazinon pekat}$$

$$V \text{ diazinon pekat} = \frac{5 \text{ ppm} \times 100 \text{ ml}}{40 \text{ ppm}} = 12,5 \text{ mL}$$

Dengan cara yang sama, sebanyak  $x$  ml larutan uji diazinon diambil, lalu ditandabatkan dengan buffer Tris – HCl pH 9. Berikut ini merupakan tabel dari  $x$  ml larutan diazinon 100 ppm yang diambil untuk masing-masing konsentrasi.

**Tabel B.2** Komposisi Larutan Diazinon unutup Berbagai Konsentrasi

Konsentrasi diazinon (ppm)	X ml larutan dizinon 40 ppm yang diambil
0	0
5	12,5
10	25
15	37,5
20	50

### B.13 Pembuatan Larutan HCl 0,2 M

HCl pekat ( 37 % ) dipipet sebanyak 1,97 ml dengan menggunakan pipet ukur 1 ml lalu dipindahkan ke dalam labu ukur 100 ml. Kemudian diencerkan dengan akuades hingga tanda batas.

Massa HCl pekat adalah 37 gram dalam 100 ml, maka molaritasnya:

$$\text{Mol HCl pekat} = \frac{37 \text{ g}}{36,5 \text{ g/mol}}$$

$$= 1,014 \text{ mol}$$

$$\text{konsentrasi HCL pekat} = 1,014 \text{ mol} / 0,1 \text{ L} = 10,14 \text{ M}$$

Mol HCl sebelum diencerkan = mol HCl setelah diencerkan  
 $0,2 \text{ M} \times 100 \text{ ml} = 10,14 \text{ M} \times V \text{ HCl pekat}$

$$V \text{ HCl pekat} = \frac{0,2 \text{ M} \times 100 \text{ ml}}{10,14 \text{ ppm}} = 1,97 \text{ ml}$$

## B.14 Pembuatan Larutan Kasein

### B.14.1 Pembuatan larutan kasein 10000 ppm

Sebanyak 1 gram kasein ditimbang dan dimasukkan ke dalam gelas kimia 100 ml. selanjutnya ditambahkan NaOH 1 M tetes demi tetes hingga padatan kasein larut seluruhnya. Larutan ini dipindahkan ke dalam labu takar 100 ml dan ditambahkan akuades hingga tanda batas [39].

$$\begin{aligned}\text{Massa kasein} &= 10000 \text{ mg/L} \times 0,1 \text{ L} \\ &= 1000 \text{ mg} \\ &= 1,0 \text{ g}\end{aligned}$$

### B.14.2 Pembuatan larutan kasein 2000 ppm

Larutan kasein 2000 ppm dibuat dengan cara, larutan kasein dipipet 5 mL dan dimasukkan dalam labu takar 25 mL. Selanjutnya ditambahkan akuades hingga tanda batas [39].

$$V \text{ kasein } 10000 \text{ ppm} = \frac{2000 \text{ ppm}}{10000 \text{ ppm}} \times 25 \text{ mL} = 5,0 \text{ mL}$$

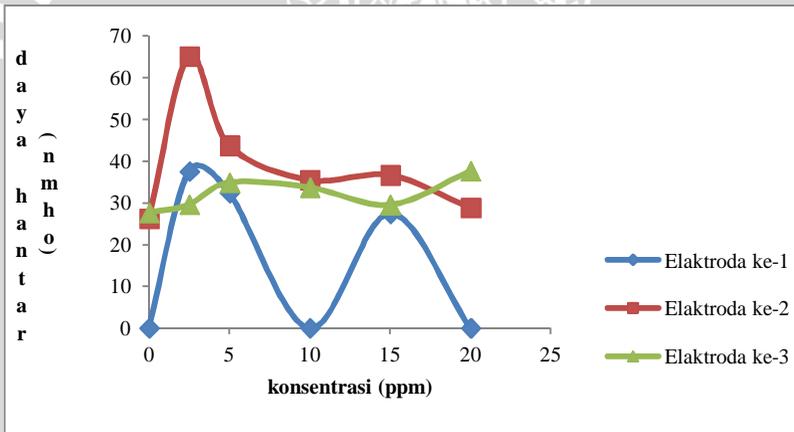
**Tabel B.3** Komposisi pembuatan larutan kasein

Konsentrasi Kasein yang Diinginkan (ppm)	Volume Larutan Kasein yang akan dibuat (mL)	Volume Larutan Kasein 10000 ppm yang dipipet (mL)
4000	25	10
6000	25	15
8000	25	20

## Lampiran C. Optimasi Biosensor Konduktometri Organofosfat

Tabel C.1 Optimasi daya hantar pada pH 7,5

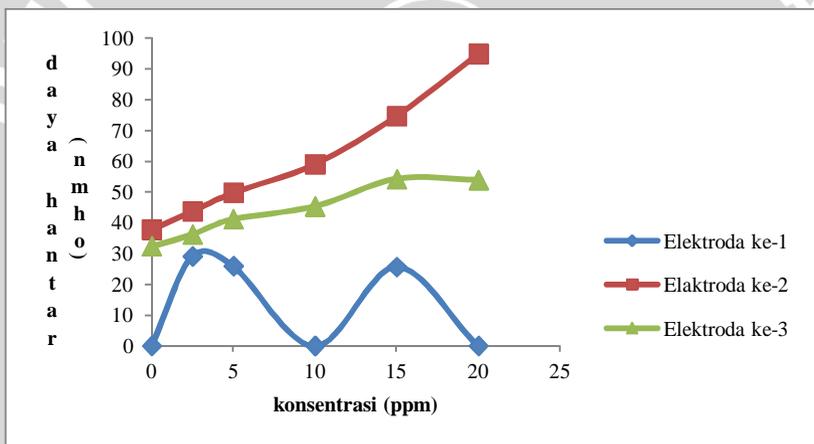
Konsentrasi (ppm)	Elektroda			Rata-rata perlakuan 1, 2,&3
	1	2	3	
0	0,00	26,26	27,66	17,97
2,5	37,57	65,11	29,60	44,09
5	32,45	43,78	34,88	37,04
10	0,00	35,52	33,73	23,08
15	27,46	36,66	29,60	31,24
20	0,00	28,87	37,64	22,17



Gambar C.1 Kurva optimasi daya hantar pada pH 7,5

**Tabel C.2** Optimasi daya hantar pada pH 8,0

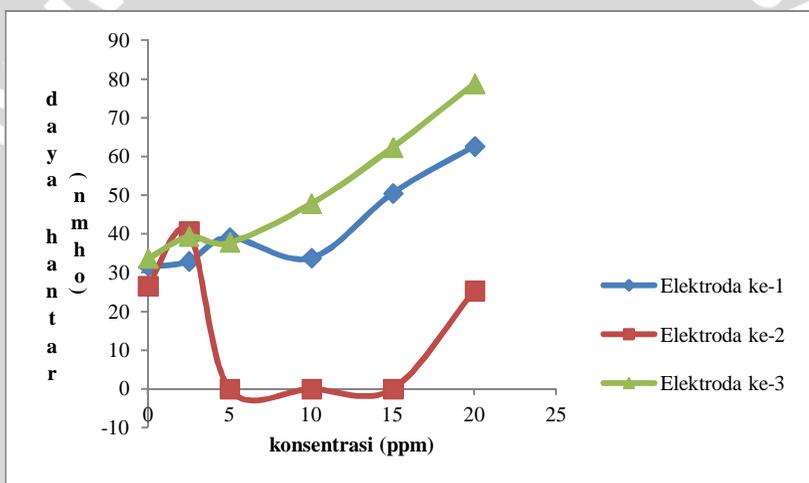
Konsentrasi (ppm)	Elektroda			Rata-rata perlakuan 2&3
	1	2	3	
0	0,00	37,75	32,37	35,06
2,5	29,12	43,71	36,27	39,99
5	25,92	49,73	41,24	45,48
10	0,00	59,03	45,33	52,18
15	25,65	74,63	54,20	64,41
20	0,00	94,88	53,88	74,38



**Gambar C.2** Kurva optimasi daya hantar pada pH 8,0

**Tabel C.3** Optimasi Daya Hantar pada pH 8,5

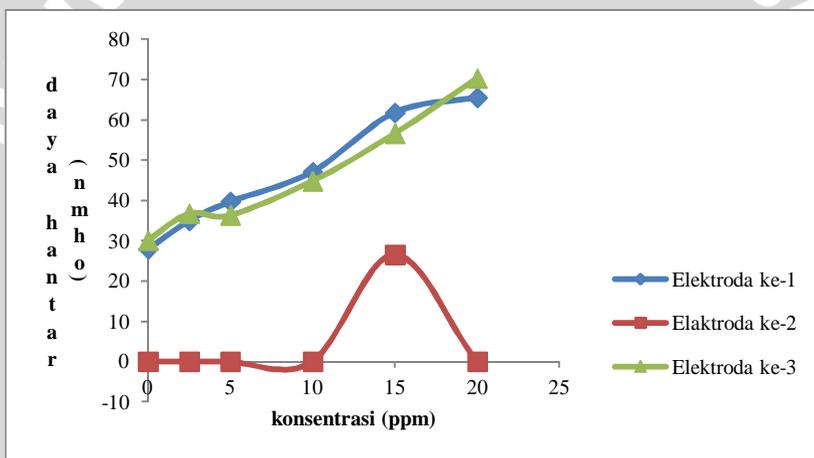
Konsentrasi (ppm)	Elektroda			Rata-rata perlakuan 1&3
	1	2	3	
0	31,58	26,50	33,63	32,60
2,5	32,90	40,63	39,31	36,10
5	39,06	0,00	37,81	38,44
10	33,76	0,00	47,82	40,79
15	50,43	0,00	62,31	56,37
20	62,58	25,27	78,80	70,69



**Gambar C.3** Kurva optimasi daya hantar pada pH 8,5

**Tabel C.4** Optimasi daya hantar pada pH 9,0

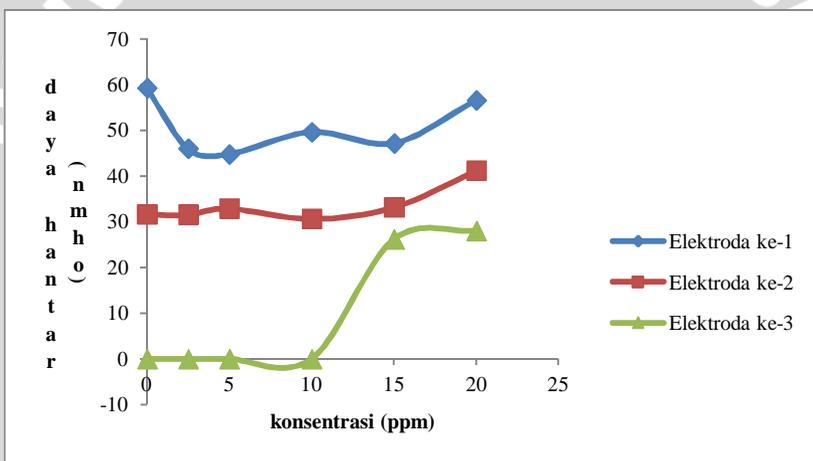
Konsentrasi (ppm)	Elektroda			Rata-rata perlakuan 1&3
	1	2	3	
0	27,88	0,00	30,05	28,96
2,5	34,94	0,00	36,70	35,82
5	39,68	0,00	36,34	38,01
10	47,06	0,00	44,76	45,91
15	61,73	26,51	56,56	59,15
20	65,45	0,00	70,27	67,86



**Gambar C.4** Kurva optimasi daya hantar pada pH 9,0

**Tabel C.5** Optimasi daya hantar pada pH 9,5

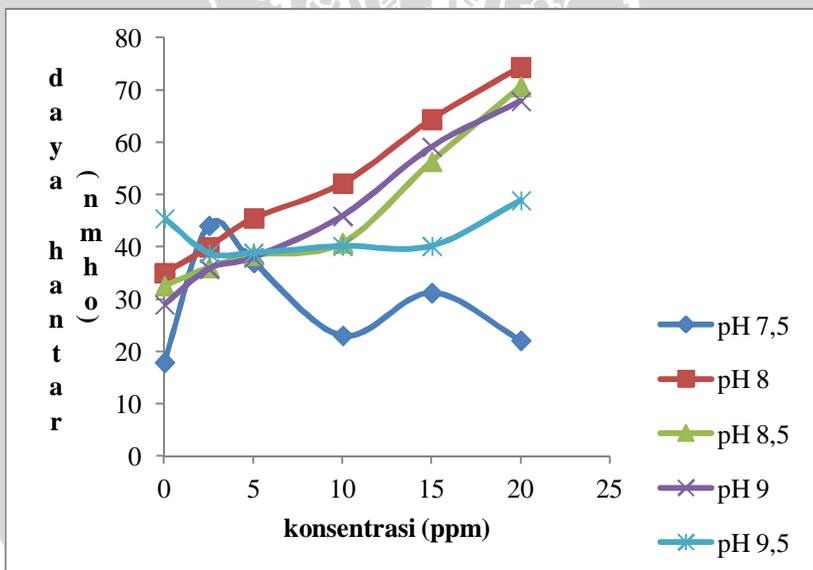
konsentrasi (ppm)	Elektroda			rata-rata perlakuan 1&2
	1	2	3	
0	59,32	31,68	0,00	45,49
2,5	46,06	31,63	0,00	38,84
5	44,78	32,96	0,00	38,87
10	49,65	30,68	0,00	40,17
15	47,19	33,20	26,14	40,20
20	56,63	41,24	28,04	48,93



**Gambar C.5** Kurva optimasi daya hantar pada pH 9,5

**Tabel C.6** Pengaruh pH larutan terhadap kepekaan dan linieritas biosensor konduktometri organofosfat pada kisaran konsentrasi 0-20 ppm

pH	Kepekaan (nmho/ppm)	Standar deviasi	linieritas	Kisaran Konsentrasi (ppm)
7,5	2,314	17,10	1	0 hingga 2,5
8	1,944	11,36	0,994	0 hingga 20
8,5	2,989	9,94	0,999	10 hingga 20
9	1,922	2,31	0,989	0 hingga 20
9,5	1,747	10,39	1	15 hingga 20



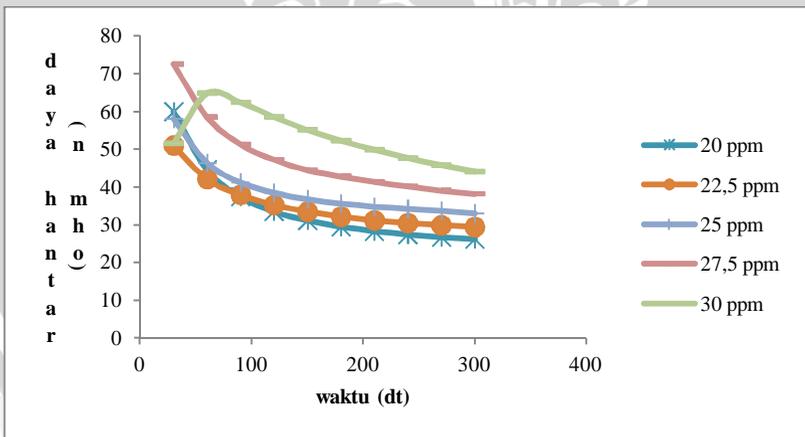
**Gambar C.6** Kurva pengaruh pH terhadap kinerja biosensor konduktometri

## Lampiran D. Karakterisasi Biosensor Konduktometri Organofosfat

### D.1 Penentuan Waktu Respon

**Tabel D.1** Penentuan waktu respon biosensor konduktometri elektroda A

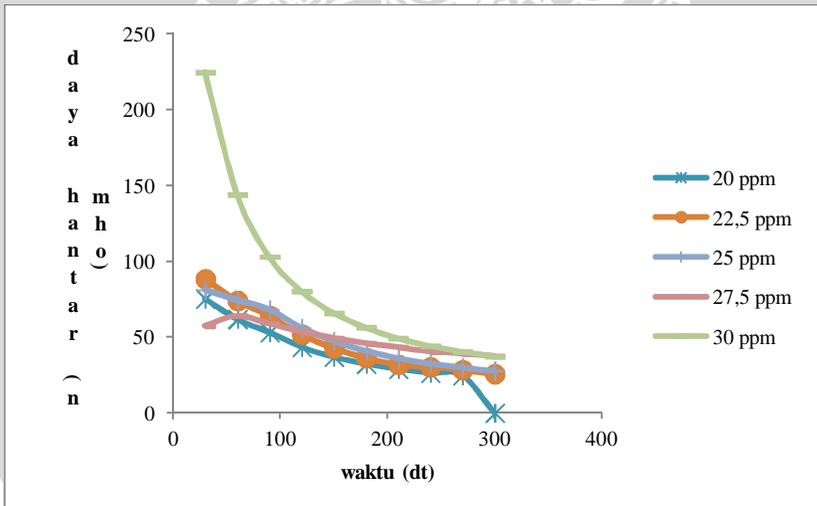
Detik ke	Daya Hantar n mho				
	20 ppm	22,5 ppm	25 ppm	27,5 ppm	30 ppm
30	59,99	50,99	58,04	72,52	51,60
60	44,60	42,14	46,36	58,55	64,85
90	37,44	37,97	41,20	51,31	62,42
120	33,49	35,26	38,45	47,26	58,62
150	31,17	33,49	36,75	44,52	55,19
180	29,53	32,14	35,64	42,85	52,30
210	28,32	31,18	34,77	41,39	49,90
240	27,46	30,47	34,25	40,19	47,73
270	26,80	29,88	33,67	39,15	45,85
300	26,22	29,41	33,01	38,23	44,17



**Gambar D.1** Kurva waktu respon untuk elektroda A

**Tabel D.2** Penentuan waktu respon biosensor konduktometri elektroda B

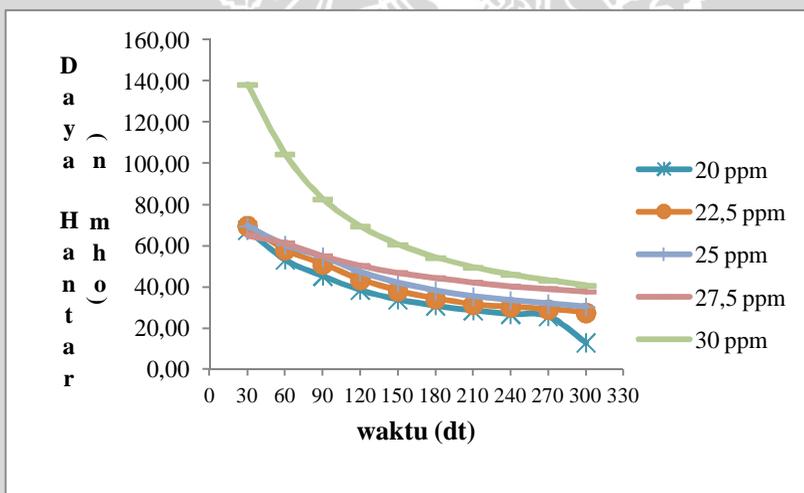
Detik ke	Daya Hantar n mho				
	20 ppm	22,5 ppm	25 ppm	27,5 ppm	30 ppm
30	75,36	88,42	81,04	57,50	224,72
60	61,88	74,02	74,35	64,06	144,09
90	53,25	64,19	68,17	58,93	102,99
120	43,54	51,89	56,12	53,62	80,32
150	36,89	42,79	47,48	49,33	66,01
180	32,44	36,48	40,93	46,02	56,37
210	29,10	31,94	36,05	43,27	49,29
240	26,31	30,29	32,69	40,52	44,27
270	24,83	28,50	30,04	39,22	40,40
300	0,00	25,79	27,87	37,40	37,23



**Gambar D.2** Kurva waktu respon untuk elektroda B

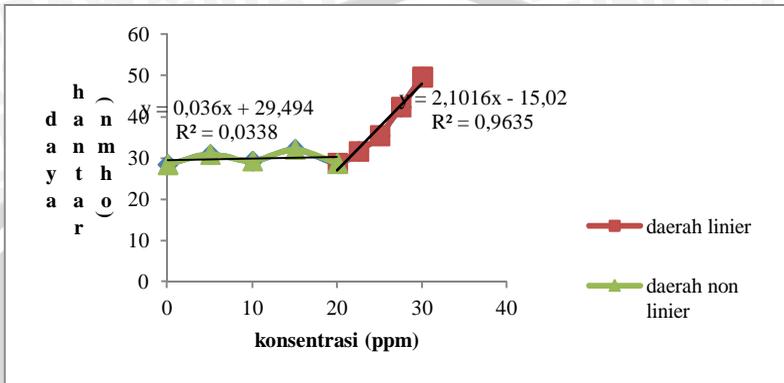
**Tabel D.3** Rata-rata penentuan waktu respon elektroda A dan B

Detik ke	Daya Hantar (n mho)				
	20 ppm	22,5 ppm	25 ppm	27,5 ppm	30 ppm
30	67,67	69,71	69,54	65,01	138,16
60	53,24	58,08	60,36	61,30	104,47
90	45,34	51,07	54,68	55,12	82,70
120	38,51	43,58	47,28	50,44	69,47
150	34,03	38,14	42,12	46,93	60,60
180	30,98	34,31	38,29	44,43	54,34
210	28,71	31,56	35,41	42,33	49,59
240	26,88	30,38	33,47	40,36	46,00
270	25,82	29,19	31,85	39,18	43,13
300	13,11	27,60	30,44	37,81	40,70



**Gambar D.3** Kurva rata-rata waktu respon elektroda A dan B pada konsentrasi 20 hingga 30 ppm

## D.2 Penentuan Kisaran Konsentrasi



**Gambar D.4** Grafik hubungan antara daya hantar dengan konsentrasi organofosfat pada konsentrasi 0-30 ppm

Perhitungan batas deteksi:

Persamaan garis daerah non linier  $y = 0,036x + 29,49$

Persamaan garis daerah linier  $y = 2,101x - 15,02$ , maka

Batas deteksi ditentukan dengan cara:

Persamaan non linier = persamaan linier

$$0,036x + 29,49 = 2,101x - 15,02$$

$$2,065x = 44,51$$

$$x = 21,55 \text{ ppm}$$

### D.3 Penentuan Lama Pemakaian

**Tabel D.4** Pengukuran daya hantar elektroda A dan B untuk pemakaian pertama pada detik ke 120

Konsentrasi diazinon (ppm)	Daya Hantar (nmho)	
	Elektroda A	Elektroda B
0	0,00	46,53
5	0,00	46,00
10	30,90	49,00
15	31,64	48,54
20	33,49	43,54
22,5	35,26	51,89
25	38,45	56,12
27,5	47,26	53,62
30	58,62	80,32
Kepekaan	2,134	2,068
Linieritas	0,950	0,972
Kisaran konsentrasi (ppm)	20 hingga 30	20 hingga 30

**Tabel D.5** Pengukuran daya hantar elektroda A dan B untuk pemakaian kedua pada detik ke 120

Konsentrasi diazinon (ppm)	Daya Hantar (nmho)	
	Elektroda A	Elektroda B
0	0,00	0,00
5	0,00	0,00
10	0,00	0,00
15	0,00	0,00
20	0,00	0,00
22,5	0,00	0,00
25	0,00	0,00
27,5	26,48	25,67
30	27,09	27,03
Kepekaan	0,209	1,623
Linieritas	1	1
Kisaran konsentrasi (ppm)	27,5 hingga 30	27,5 hingga 30

## Lampiran E. Penentuan Jumlah Enzim Amobil

### E.1 Penentuan $\lambda_{\text{mak}}$ Kasein

Larutan kasein 2000 mg/L diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Setelah itu ditentukan panjang gelombang maksimum larutan kasein ( $\lambda_{\text{mak}}$ ). Panjang gelombang maksimum (sumbu x) ditunjukkan oleh nilai absorbansi ( $A = 0,078$ , sumbu y) yang paling besar yaitu 536 nm.

### E.2 Kurva Baku Kasein

Volume larutan standar kasein yang digunakan= 5 mL

Volume larutan yang diukur absorbansinya= 15 mL

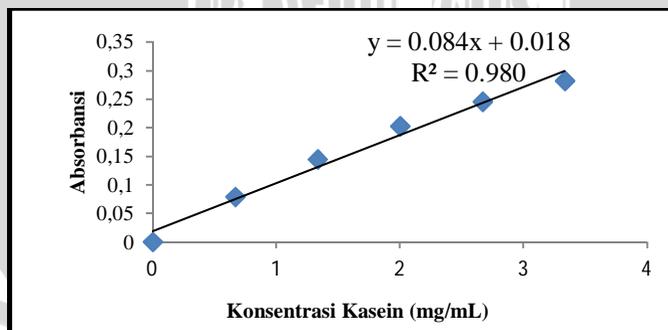
Contoh perhitungan :

$$5 \text{ mL} \times 2000 \text{ mg/L} = 15 \text{ mL} \times C_2$$

$$C_2 = 666,7 \text{ mg/L} = 0,667 \text{ mg/mL}$$

**Tabel E.1** Absorbansi kasein pada 536 nm

No	[Kasein] (ppm) (Sebelum Pengenceran)	[Kasein] (mg/mL) (Setelah Pengenceran)	Absorbansi
1	0	0	0
2	2000	0,667	0,0789
3	4000	1,333	0,1444
4	6000	2	0,2026
5	8000	2,667	0,2455
6	10000	3,333	0,282



## Gambar E.1 Kurva baku kasein

**Tabel E.2** Absorbansi larutan OPH (organofosfat hidrolase)

Larutan OPH	Absorbansi larutan OPH	
	OPH bebas	OPH sisa amobil
I	0,2771	0,1893
II	0,2587	0,1991
III	0,2637	0,1809
Rata-rata	0,2665	0,1898
Jumlah OPH	32,5417	22,4933

Konsentrasi protein pada larutan OPH ditentukan dengan cara mengubah absorbansi larutan OPH dalam bentuk konsentrasi menggunakan persamaan garis pada kurva baku kasein, yaitu  $y = 0,084x + 0,018$ .

Volume larutan enzim yang digunakan untuk penentuan = 1 mL

Volume larutan yang diukur absorbansinya = 11 mL

Perhitungan jumlah protein OPH bebas dengan absorbansi rata-rata 0,2665

$$y = 0,084x + 0,018$$

$$0,2665 = 0,084x + 0,018$$

$$0,2485 = 0,084x$$

$$x = 2,9583 \text{ mg/mL} \quad (\text{dalam 11 mL})$$

maka konsentrasi dalam 1 mL:

$$11 \text{ mL} \times 2,9583 \text{ mg/mL} = 1 \text{ mL} \times C2$$

$$C2 = 32,5417 \text{ mg/mL}$$

Dengan cara yang sama dapat ditentukan konsentrasi protein OPH sisa amobil yang memiliki absorbansi rata-rata 0,1898. Kemudian didapatkan konsentrasi OPH sisa amobil yaitu 22,4933 mg/mL (dalam 1 mL). Dari data tersebut dapat ditentukan jumlah OPH yang teramobilkan pada membran kitosan yang terlapis pada elektroda, dengan cara:

Jumlah OPH amobil = jumlah OPH bebas – jumlah OPH sisa amobil

$$\text{Jumlah OPH amobil} = 32,5417 \text{ mg/mL} - 22,4933 \text{ mg/mL}$$

$$\text{Jumlah OPH amobil} = 10,0484 \text{ mg/mL}$$

## Lampiran F. Gambar Pendukung

### F.1 Rangkaian Alat Biosensor Konduktometri Organofosfat



**Gambar F.1** Rangkaian alat biosensor konduktometri organofosfat

### F.2 Membran Kitosan yang Terlapis pada Elektroda Kerja



**Gambar F.2** Membran kitosan pada elektroda

### F.3 Media Cair Pertumbuhan Bakteri



**Gambar F.3** Inokulum (media cair pertumbuhan bakteri)

